



Doctoral Thesis

Tolerance analyses in algal communities and populations exposed to pollutants

Author(s):

Soldo, Diana

Publication Date:

2000

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004125982> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 13768

**Tolerance analyses
in algal communities and populations
exposed to pollutants**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZUERICH (ETH)

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Diana Soldo
Dipl. Natw. ETH (Zürich)
Born on 29 November 1968 in Baden, Switzerland

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. J.V. Ward, examiner
Prof. Dr. G. Bitton, co-examiner
Prof. Dr. L. Sigg, co-examiner
Dr. R. Behra, co-examiner

Zürich, 2000

Summary

One of the major objectives of ecotoxicology is to assess the effects of pollutants on natural systems. Therefore, it is important to develop methods for identifying pollutant-induced ecological changes. Measurements of community tolerance have been proposed to assess pollutant-induced effects at the community level. An approach called Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) has been hypothesized to provide direct evidence that a community is affected by toxicants. Furthermore, the agents affecting the biota can be identified because PICT will be observed only for those compounds that exert selection pressure on the community.

This study assessed whether analysis of short-term tolerance of communities to pollutants could be useful for determining pollutant-induced ecological effects under different experimental exposure conditions. Structural and functional changes in natural periphyton communities were examined for tolerance shifts due to long-term exposure to toxicants. Population dynamics were studied to better understand processes operating at the community level that may lead to shifts in tolerance.

We investigated the effects of long-term exposure to copper on the community structure of freshwater periphyton communities and their subsequent short-term community tolerance to copper, zinc, nickel, and silver. By controlling the copper exposure to natural periphyton communities we tested whether short-term tolerance measurements were predictive of structural changes. Tolerance of periphyton communities exposed to copper was found to be greater compared with control communities. The tolerance of the copper exposed communities resulted in increased tolerance to zinc, nickel, and silver. Exposure to copper changed the distribution of algal divisions in the communities from dominance by cyanophyceae to dominance by chlorophyta. Remarkable was the increased relative abundance of the unicellular green alga *Oocystis nephrocytioides* in communities exposed to copper.

To study whether the tolerance to copper was specific of *O. nephrocytioides* or did it vary due to genetic and environmental influences and what were the effects of copper exposure on those organisms a population of *O. nephrocytioides* isolated from a community that was exposed to long-term high copper concentrations was compared with a population isolated from a reference community. Both populations were found to be similar in their response to copper with regards to various molecular, morphological and physiological parameters. The results indicated a high constitutive tolerance of *O. nephrocytioides* to copper and also to other metals; however, *O. nephrocytioides* was more sensitive to certain herbicides. Therefore, the in-

creased tolerance of periphyton communities to metals was linked to the abundance of *O. nephrocytioides*, but those communities would be more sensitive to additional stress (i.e., herbicides) than communities not affected by copper.

High copper tolerance of *O. nephrocytioides* may have resulted by alteration in copper bioavailability due to a change in speciation of copper in the extracellular region or from intracellular detoxification mechanisms. To better understand metal tolerance mechanisms of *O. nephrocytioides* we evaluated the interaction of copper with this algal species. Production of extracellular ligands was not stimulated in *O. nephrocytioides* in response to copper exposure. Ligand production was more likely the result of some metabolic process rather than a detoxification mechanism to reduce copper toxicity. Tolerance to copper in *O. nephrocytioides* was, therefore, not achieved by lowering external free Cu^{2+} concentration and uptake, but involved other protection mechanisms. Indeed binding at the cell surface and internal copper-sequestration, mainly in the chloroplast structures, were the most important tolerance mechanisms in cells exposed to high copper concentrations.

The question whether PICT is detectable in situations of exposure to a complex mixture of toxicants was examined in periphyton communities exposed to sewage effluent. The main effect of long-term effluent exposure on periphyton communities was a structural change. Functional processes of the communities were highly variable and may have been due to structural shifts. In the first weeks of exposure, despite structural changes in the communities exposed to effluent, no increased tolerance to the effluent was observed compared to control communities. This was due to the predominance of species not particularly tolerant to effluent. Only after longer exposure time and further changes in community composition was increased tolerance to effluent observed. Thus, depending on the parameters used to express tolerance and on the exposure time, tolerance-shifts were found to be useful to investigate effluent-induced changes. However, the results indicate that some structural and physiological changes in communities exposed to effluent were not detected by the PICT approach. The results suggest that PICT measurements should include a wide range of structural, physiological and functional analyses to detect impacts of pollutant at community level.

Zusammenfassung

Die Ökotoxikologie beschäftigt sich hauptsächlich mit den Auswirkungen von Schadstoffen in natürlichen Systemen. Dabei ist es wichtig, Methoden zur Identifizierung von ökologischen Schädwirkungen zu entwickeln. Zur Untersuchung der Auswirkungen von Schadstoffen auf natürlichen Gemeinschaften wurde vorgeschlagen, Analysen der Gemeinschaftstoleranz durchzuführen. Eine schadstoffinduzierte Gemeinschaftstoleranz (PICT) soll helfen, Wirkungen von Schadstoffen nachzuweisen und deren Identifizierung zu ermöglichen, da sich eine Toleranz nur gegenüber jenen Schadstoffen entwickeln dürfte, die auf die Gemeinschaft einen Selektionsdruck ausgeübt haben.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich vor allem mit der Frage, ob Toleranzanalysen von natürlichen Gemeinschaften unter verschiedenen Versuchsbedingungen zu einem besseren Verständnis der Auswirkungen von Schadstoffen beitragen können. Zu diesem Zweck wurden Periphytongemeinschaften unter Einwirkung von Schadstoffen exponiert und deren strukturellen und funktionellen Änderungen im Hinblick auf ihr Toleranzverhalten untersucht. Die Populationsdynamik wurde analysiert, um die Prozesse auf Gemeinschaftsebene besser zu verstehen, die zu Toleranzveränderungen führen.

Untersucht wurden die Einflüsse einer kontrollierten Langzeitexposition unter Kupfer auf die Struktur von Periphytongemeinschaften sowie auf deren Toleranz gegenüber Kupfer. Dabei stand die Frage in Vordergrund, ob kurzzeitige Toleranzmessungen eine strukturelle Änderung widerspiegeln können. Die Kupfertoleranz des exponierten Periphytons war gegenüber unexponierten Gemeinschaften tatsächlich erhöht, wobei sich die kupfertoleranten Gemeinschaften auch durch eine erhöhte Toleranz zu Zink, Nickel und Silber auszeichneten. Die Kupferexposition führte zu Veränderungen in der Artenzusammensetzung der Gemeinschaften. Beobachtet wurde ein Wechsel von einer Cyanophyceae-Dominanz zu einer Chlorophyta-Dominanz. Auffällig war die erhöhte relative Abundanz der einzelligen Grünalge *Oocystis nephrocytioides* in den kupferexponierten Gemeinschaften.

Ausgehend von der Frage, ob die Kupfertoleranz von *O. nephrocytioides* artspezifisch war oder ob sie von genetischen Veränderungen und den Umweltbedingungen abhängig war und welchen Einfluss die Kupferexposition auf diese Organismen hatte, wurde eine Population von *O. nephrocytioides* aus einer Gemeinschaft isoliert, die für längere Zeit unter Einwirkung von Kupfer exponiert worden war, und mit einer Population aus einer Referenzgemeinschaft verglichen. In Hinblick auf molekulare, morphologische und physiologische Parameter reagierten beide Populationen auf ähnlicher Weise auf Kupferexpositionen. Diese Ergebnisse deuten auf eine erhöhte konstitutionelle

Kupfertoleranz von *O. nephrocytioides* hin. Im Vergleich zu Periphytongemeinschaften wurde eine erhöhte Toleranz von *O. nephrocytioides* gegenüber Kupfer und anderen Metallen festgestellt. *O. nephrocytioides* reagierte jedoch sensibler auf gewisse Herbizide. Die erhöhte Metalltoleranz von Periphytongemeinschaften ergab sich folglich aus der erhöhten Abundanz von *O. nephrocytioides*, aber gerade diese Gemeinschaften würden sich als empfindlicher gegenüber einer weiteren Schadstoffexposition erweisen - z.B. durch Herbizide - als Gemeinschaften, die nicht kupferexponiert waren.

Möglicherweise könnte eine Veränderung der Bioverfügbarkeit von Kupfer durch Änderung der Metallspezierung in der extrazellulären Region oder bestimmte intrazelluläre Detoxifizierungsmechanismen zu der erhöhten Kupfertoleranz von *O. nephrocytioides* geführt haben. Um die Toleranzmechanismen von *O. nephrocytioides* besser zu verstehen, wurde die Interaktion von Kupfer mit dieser Algenart untersucht. Diese Untersuchungen zeigten, dass die Produktion von extrazellulären Liganden bei *O. nephrocytioides* nicht durch Kupferexposition als Detoxifikationsmechanismus angeregt wurde. Vielmehr erwiesen sich die Liganden als Nebenprodukte von metabolischen Prozessen. Ferner wurde die Kupfertoleranz von *O. nephrocytioides* nicht durch Verminderung der freien Cu^{2+} -Konzentrationen erreicht, sondern durch andere Verteidigungsmechanismen. Kupfer Adsorption an der Zellwand und interne Kupfersequestration - vor allem im Chloroplasten-Bereich - erwiesen sich als wichtigste Toleranzmechanismen in denjenigen Zellen, die kupferexponiert waren.

Die Frage, ob PICT unter Exposition komplexer Mischungen von Schadstoffen feststellbar ist, wurde ebenfalls untersucht. Hierzu wurden Periphytongemeinschaften an Abwasser exponiert. Die Hauptauswirkungen der Abwasserexposition waren strukturelle Veränderungen der Gemeinschaften. In den ersten Wochen der Exposition wurden trotz Veränderungen der Gemeinschaftsstruktur keine Toleranzveränderungen festgestellt; dies aufgrund einer Dominanz von Arten, die nicht abwassertolerant waren. Nach einer längeren Expositionszeit jedoch und weiteren strukturellen Veränderungen konnte eine erhöhte Abwassertoleranz beobachtet werden. Je nach Parameter, die für die Bestimmung der Toleranz eingesetzt wurde, erwiesen sich Toleranzanalysen als zuverlässige Indikatoren für Beeinträchtigungen durch Abwasser. Dennoch zeigten die Ergebnisse, dass PICT gewisse strukturelle und physiologische Veränderungen in den Gemeinschaften, die sich aus einer Abwasserexposition ergeben, nicht erfasst. Dies suggeriert, dass PICT-Analysen durch zusätzliche Untersuchungen mehrerer physiologischer, funktioneller und struktureller Parameter ergänzt werden sollten.