**STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ MGR ARIELA KAMIŃSKIEGO**

Eutrofizacja środowiska wodnego przyczyniła się do wzrostu częstotliwości pojawiania się i intensywności zakwitów sinicowych. W przypadku gdy dominującym w nich gatunkiem były organizmy zdolne do syntezy związków toksycznych, nasilał się proces uwalniania do wody wielu bioaktywnych metabolitów wtórnych sinic, szkodliwych dla zdrowia i życia ludzi oraz zwierząt. Najpowszechniej występującą
w wodach powierzchniowych neurotoksyną pochodzenia sinicowego jest anatoksyna-a (ANTX-a). Została ona jako pierwsza spośród toksyn sinicowych wyizolowana
i scharakteryzowana strukturalnie. Występowanie ANTX-a potwierdzono między innymi
w: Finlandii, Francji, Iranie, Japonii, Kanadzie, Kenii, Polsce, Stanach Zjednoczonych, Szwecji, Włoszech. ANTX-a jest syntetyzowana przez następujące rodzaje sinic: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Arthrospira*, *Cylindrospermum*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix* i *Raphidiopsis.* W organizmach kręgowców ANTX-a wiąże się
z receptorami nikotynowymi w błonie postsynaptycznej reagując w podobny sposób jak acetylocholina, jednak w przeciwieństwie do niej utworzony kompleks nie może podlegać degradacji poprzez acetylocholinesterazę. Działanie toksyny w tym przypadku objawia się: nadmierną stymulacją mięśni, drgawkami, zaburzeniami oddechowymi i paraliżem,
a działanie może prowadzić do trwałej blokady mięśni oddechowych i śmierci organizmów poprzez uduszenie.

Dostępne w literaturze zasoby informacji wyjaśniających wpływ czynników fizykochemicznych na trwałość cząsteczki ANTX-a były dalece niewystarczające. Wcześniejsze prace wskazywały na wysoką labilność cząsteczki; czas jej półrozpadu
w warunkach naturalnego fotoperiodu wynosił 14 dni. W niniejszej dysertacji wykazano, że
w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, pod wpływem oddziaływania czynników fizykochemicznych o natężeniu zbliżonym do występujących w naturze, ANTX-a cechowała się znacznie wyższą stabilnością, zależną od pH roztworu inkubacyjnego. Zakwaszenie wodnego roztworu zawierającego toksynę stabilizowało cząsteczkę ANTX-a, podczas gdy jego alkalizacja przyspieszała procesy jej degradacji. ANTX-a była stosunkowo stabilnym związkiem przez 9 tygodni w czasie traktowania jej roztworów wysokim natężeniem promieniowania fotosyntetycznie aktywnego, temperatury ≤ 20 °C, kwasowego pH, obecności sinicowego barwnika – fikocyjaniny C. Przyspieszoną degradację toksyny wykazano w czasie 1 godzinnego oddziaływania na próbę: promieniowania UV-B (obniżenie stężenia toksyny o 84 % w warunkach pH=9,5) oraz temperatury 100 °C (obniżenie o 83 % wartości początkowego stężenia). W czasie analizy MS/MS wykazano obecność trzech nowych, wcześniej nieopisanych, stabilnych produktów degradacji o *m/z* równym 180 Da, 184 Da i 198 Da. Wiedza o efektach oddziaływania czynników fizycznych przyspieszających proces degradacji toksyny może być ewentualnie w przyszłości pomocna przy opracowywaniu procedur uzdatniania wody surowej.

W przeciwieństwie do bardzo dobrze opisanego wpływu ANTX-a na zwierzęta, oddziaływanie jej na rośliny nie zostało w zadowalający sposób rozpoznane. Manuskrypt pracy zawiera wyniki określające wpływ toksyny na wodny makrofit *Lemna trisulca* oraz jego zdolność do jej bioakumulacji i biodegradacji. Gatunek tej wodnej rośliny zasiedla geograficznie podobne do sinic zdolnych do syntezy ANTX-a stanowiska. Charakteryzują go niewielkie rozmiary, rośnie szybko i nie wykazuje wrażliwości na występujące w środowisku naturalnym stężenia ANTX-a (≤ 1,75 μg·mL-1). W przedstawionej pracy wykazano, że
w pożywkach z dodatkiem ANTX-a o stężeniach ≤ 5 μg·mL-1, nie obserwowano stresu objawiającego się w roślinie: wzmożoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych, zmianą zawartości białka, barwników fotosyntetycznych, oraz natężenia procesów fotosyntezy
i oddychania w porównaniu do kontroli. Znaczące obniżenie biomasy o około 30 %
w porównaniu do kontroli wykazano dopiero po 24 dniach kultywacji roślin w pożywkach
z dodatkiem ANTX-a o stężeniu 12,5 µg·mL-1. Ujawniono w tych warunkach doświadczalnych znaczące obniżanie natężenia procesu fotosyntezy. W przypadku potraktowania roślin dwukrotnie wyższą zawartością toksyny w pożywkach wykazano od
14 dnia eksperymentów obniżanie w nich zawartości chlorofilu *b*.

W czasie 14 dniowej kultywacji 1 g świeżej masy (f.w) *L. trisulca* w pożywce zawierającej 250 µg ANTX-a, wykazano 86 % obniżenie jej początkowego stężenia. Badana roślina okazała się zdolna do silnego wiązania toksyny, a po przeniesieniu jej do czystej pożywki uwalniała do niej zaledwie od 3,5 % do 5,1 % wcześniej zaabsorbowanej ANTX-a. W ciągu 14 dni kultywacji w czystych pożywkach zawartość zakumulowanej wcześniej przez makrofit ANTX-a ulegała obniżeniu o: 76 % (z 19,3 µg ANTX-a · g-1 świeżej masy, f.w.),
o 71 % (z 37,3 µg ANTX-a · g-1 f.w.) oraz 47 % (z 63,7 µg ANTX-a · g-1 f.w.). Wyniki wydają się sugerować, że część toksyny podlegała procesowi degradacji wewnątrz makrofitu. W tym przypadku nie ujawniono jednak powstawania żadnych nowych produktów degradacji, ani nie stwierdzono, czy degradacja toksyny zachodzi na drodze enzymatycznej czy fizykochemicznej. Uzyskane rezultaty pozwalają na potwierdzenie korzystnej roli *L. trisulca* w procesie usuwania ze środowiska naturalnego neurotoksycznej ANTX-a.

W trakcie realizowanych badań ważnym zadaniem było wyjaśnienie interakcji
*L. trisulca* z sinicą *Anabaena flos-aquae*. W czasie wspólnej kultywacji obu gatunków przez 32 dni wykazano drastyczne obniżenie biomasy sinic o 86,9 %. Dla porównania
w podobnym czasie nie wykazano różnic w biomasie roślin kultywowanych wspólnie
z sinicą lub roślin kontrolnych. *L. trisulca* wykazywała stabilizujący wpływ na pH pożywek. W czasie 32 dni kultywacji wykazano bardzo wydajne pobieranie przez makrofit jonów fosforanowych. Ograniczanie dostępności tego kluczowego dla rozwoju sinic nutrientu drastycznie modyfikowało wartość ilorazu N/P. Ponadto następowało
w tych warunkach obniżenie stężenia ANTX-a w pożywce o 78,6 % i o 99,9 %
w komórkach sinic. W czasie wspólnej kultywacji obydwu organizmów nie wykazano podwyższania zawartości fenoli w: pożywkach, makroficie oraz sinicy. Po przeprowadzeniu testów środowiskowych, wydaje się możliwe wykorzystanie testowanej wodnej rośliny do ograniczania rozwoju *A. flos-aquae* oraz obniżania zawartości uwalnianej przez nią do środowiska wodnego neurotoksyny podczas zakwitów.