

Lucyna Balcerzak

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.

WPLYW POCHODNYCH TERPENOIDOWYCH NA WZROST CYJANOBAKTERII

Jednym z najbardziej nagłaśnianych medialnie, a zarazem najbardziej niekorzystnych zjawisk obserwowanych współcześnie w ekosystemach wodnych jest eutrofizacja, czyli proces polegający na nadmiernym wzbogacaniu zbiorników i cieków wodnych w pierwiastki biogenne, co prowadzi do wzrostu żyzności wód. Przyczyną wzrostu ładunku jonów pierwiastków biogennych (przede wszystkim fosforu) upatruje się w narastającej antropopresji. Jony fosforu i azotu, często występują razem w molekułach wymienionych, powszechnie stosowanych chemikaliów, razem też przedostają się do wód gdzie indukują masowe zakwity fitoplanktonu, głównie zielenic, okrzemków i sinic. Następstwem tego zjawiska są: zmniejszenie przejrzystości wód, spadek różnorodności biologicznej oraz niedobór tlenu, który doprowadza do masowego giniecia ryb. Ponadto pojawianie się cyjanobakterii wśród organizmów tworzących zakwity, wiąże się ze wzmożonym wytwarzaniem cyjanotoksyn. Toksyny sinicowe są niebezpieczne zarówno dla ludzi jak i zwierząt, mogą powodować: nadmierne wydzielanie śliny, skurcze mięśni, uszkodzenie wątroby, podrażnienie skóry lub porażenie mięśni. Największe zakwity sinicowe występują w okresach letnich, a na ich intensywność wpływa wiele czynników takich jak: stężenie jonów azotu i fosforu, temperatura, opady deszczu, pH, intensywność światła oraz stosunek jonów azotu do fosforu.

Cyjanobakterie charakteryzują się bardzo wysoką tolerancją na czynniki środowiskowe - są zaliczane do organizmów pionierskich. Występują zarówno w wodach słonych, słodkich, solankach, źródłach termalnych oraz wodach Antarktycznych. Szerokie spektrum występowania tych mikroorganizmów związane jest z ich szczególnie efektywnym metabolizmem - do życia wymagają jedynie podstawowych składników chemicznych: wody, dwutlenku węgla, prostych soli nieorganicznych oraz światła. Głównym źródłem pozyskiwania energii przez cyjanobakterie jest proces fotosyntezy, jednak znane są gatunki, które są zdolne do przeżycia długich okresów w ciemności. Ponadto, niektóre sinice wykazują zdolność do odżywiania heterotroficznego.

Wymienione wcześniej cechy metaboliczne cyjanobakterii, warunkujące niezwykłą odporność tych mikroorganizmów na skrajnie niekorzystne warunki środowiskowe oraz problem produkcji cyjanotoksyn sprawiają, że coraz intensywniej poszukuje się skutecznych sposobów przeciwdziałania nadmiernej proliferacji tych mikroorganizmów. Nowym i interesującym pomysłem doraźnego ograniczenia liczebności sinic w akwenach, w celu przywrócenia różnorodności składu fitoplanktonu, jest zastosowanie substancji naturalnych wykazujących szerokie spektrum aktywności biologicznej.

Naturalne terpeny są najliczniejszą grupą metabolitów wtórnych, będących głównymi składnikami roślinnych ekstraktów i olejków eterycznych. Monoterpeny zaś stanowią najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną strukturalnie grupę terpenów. Poza bezpośrednią izolacją z roślin, związki te często uzyskuje się z odpadów przemysłu przetwórczego. Niski koszt surowców do pozyskiwania monoterpenów powoduje, że są one substratami tanimi i powszechnie dostępnymi. Monoterpeny są wykorzystywane w przemyśle perfumeryjnym, kosmetycznym, spożywczym, medycznym oraz rolnictwie. W przyrodzie związki te występują, jako węglowodory, alkohole,

estry, aldehydy, ketony oraz kwasy karboksylowe. Natomiast obecność chiralnego atomu węgla w strukturze monoterpenów powoduje występowanie enancjomerów, które zazwyczaj posiadają odmienną aktywność biologiczną wobec organizmów żywych.

Powszechność występowania w przyrodzie oraz szerokie spektrum zastosowań monoterpenów, może powodować przedostawanie się w większych ilościach tego rodzaju związków do ekosystemów wodnych. Do tej pory nie zbadano jak ta klasa związków wpływa na rozwój sinic oraz jakie zmiany strukturalne monoterpenów powodują te mikroorganizmy. Dane literaturowe wykazują, że istnieje zdolność cyjanobakterii do biotransformacji niektórych związków monoterpenowych, jednak mechanizmy tych procesów, jak również zakres i sposób oddziaływania monoterpenów na sinice, są niemal nieznanne.

Przeprowadzone badania poświęcone wpływowi monoterpenoidów na rozwój cyjanobakterii, udowodniono, że związki te w większości przypadków ograniczają wzrost biomasy sinicowej. Niektóre doświadczenia takie jak oddziaływania: citronelol z *C. minutus*, *N. moravica* oraz *S. platensis* czy *S-(+)*-karwon z *C. minutus* i *S. platensis* doprowadziły do obumarcia praktycznie całej hodowli w najwyższych stosowanych stężeniach. Jedynie (*1R*)-(-)-fenchon ze *Spiruliną platensis* oraz eukaliptol z *Nodulari moravica* spowodowały wzmożony rozwój biomasy sinicowej. Badania te również uwidoczniły największą odporność *Anabaena* sp. na dodatek monoterpenoidów do pożywek.

Badania przeprowadzone na konsorcjach cyjanobakterii słodkowodnych udowodniły synergizm rozwoju mieszaniny *Anabaena* sp., *C. minutus* i *N. moravica*. W przypadku konsorcjów sinic monoterpenoidy powodowały ograniczenie rozwoju. Jedynie eugenol najslabiej redukował wzrost. Ciekawe wyniki uzyskano w przypadku (+)-3-karenu, który w przeciwieństwie do wcześniejszych wyników wzmógł rozwój konsorcjum sinic. Terpentyna również wykazała zdolność ograniczania rozwoju badanego konsorcjum cyjanobakteryjnego.

Badania mieszanin monoterpenoidów na rozwój poszczególnych gatunkach cyjanobakterii, wykazały ograniczający wpływ tych substancji. Najbardziej wrażliwym gatunkiem w tym przypadku okazała się *S. platensis*. Interesujące wyniki uzyskano w przypadku *Anabaena* sp., która w obecności mieszaniny eugenolu z *S-(+)*-karwonem znacznie ograniczyła swój rozwój, eugenol maskował działanie *S-(+)*-karwonu. *C. minutus* w przeciwieństwie do poprzednich wyników praktycznie we wszystkich mieszaninach wykazała ograniczony rozwój, ale był on bardziej intensywny niż w przypadku pojedynczych monoterpenoidów.

Wyniki badań dowodzą, że monoterpenoidy wybrane do testów, w większości przypadków ograniczają wzrost cyjanobakterii. Jedynie w nielicznych układach eksperymentalnych, obecność izoprenoidów skutkowałą zwiększonym rozwojem komórek. Przeprowadzone badania wykazały, że każdy z zastosowanych monoterpenoidów wpływa inaczej na wzrost hodowli sinic. Ograniczyć rozwój cyjanobakterii można pojedynczymi monoterpenami oraz ich mieszaninami. Każdy z badanych gatunków charakteryzował odmienny wzrost oraz wrażliwość na obecności badanych substancji.

Pomimo licznych prób przeprowadzone biotransformacji monoterpenoidów przez cyjanobakterii, nie udało się uzyskać znaczących wyników. Jedynie (+)-linalol, (-)-mentol, *S*- i *R*-karwon z 25 badanych związków, zostały zbiokatalizowane i to z niewielkimi wydajnościami.