

Niewiele wiadomo na temat toksyczności oligopeptydów sinicowych nie będących mikrocyzynami. Dlatego też celem tego projektu jest zbadanie wpływu indywidualnych oligopeptydów sinicowych, takich jak aeruginozyna, aeruginozamidy, anabenopeptyny, cyjanopeptoliny oraz w kombinacji z cyjanotoksynami (mikrocyzyną-LR oraz cylindrospermopsyną) na organizmy reprezentujące różne poziomy troficzne ekosystemów wodnych: rzęsa wodna (*Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza*) i bezkręgowce taki jak wrotki (*Brachionus calyciflorus*), skorupiaki (*Daphnia* sp., *Thamnocephalus platyurus*), owady (*Chironomus* sp) i ryby (linie komórkowe: linie komórek skrzelii (RTgill-W1) oraz linie komórek odpornościowych karpia (CLC). Proponujemy następujące hipotezy, które będą zweryfikowane podczas badań: **a) indywidualne oligopeptydy sinicowe inne niż cyjanotoksyny (MC-LR, cylindrospermopsyna) wywołują zmiany przeżywalności, wzrostu, parametrów behawioralnych, fizjologicznych i biochemicznych w organizmach wodnych, b) oligopeptydy sinicowe nasilają efekty szkodliwe wywołane przez powszechnie występujące toksyny sinicowe (mikrocyzyną-LR, cylindrospermopsyna).** Projekt zawiera kilka nowatorskich aspektów:

1. Biorąc pod uwagę aktualny stan wiedzy brak jest danych na temat subletalnych efektów oligopeptydów sinicowych (poza mikrocyzynami) na poziomie organizmowym określonym przez czułość i wczesne odpowiedzi, fizjologiczne i biochemiczne (i behawioralne w przypadku zwierząt), istnieją także pojedyncze badania dotyczące efektów letalnych u skorupiaków. Planowane zastosowanie po raz pierwszy mikroskopii fluorescencyjnej umożliwi stworzenie map efektów cytotoksycznych u skorupiaków i Wrotek eksponowanych na oligopeptydy sinicowe.
2. Większość literatury dotyczącej efektów oligopeptydów sinicowych ogranicza się do badania efektów pojedynczych enzymów. Proponowany projekt umożliwi szersze spojrzenie na funkcjonowanie zwierząt eksponowanych na oligopeptydy i ich mieszaniny występujące w naturze. Badania będą dotyczyły ich działania na poziomie organizmowym (*in vivo*).
3. Nowatorskie podejście w tym projekcie dotyczy będzie określenia wpływu tych metabolitów sinicowych na wybrane parametry komórkowe ryb. Linie komórek skrzelii pstrąga tęczowego (RTgill-W1) i leukocytów karpia (CLC) zostaną zastosowane jako czułe wskaźniki oddziaływania oligopeptydów.

Organizmy eksperymentalne będą eksponowane na:

- indywidualne czyste oligopeptydy
- mieszaninę indywidualnych oligopeptydów z mikrocyzyną-LR (cyjanotoksyną)
- mieszaninę indywidualnych oligopeptydów z cylindrospermopsin (cyjanotoksyną)
- mieszaninę wszystkich badanych oligopeptydów

we wzrastających koncentracjach w porównaniu do kontroli.

Ponieważ oligopeptydy sinicowe są wysoce bioaktywne i można się spodziewać różnych efektów, szeroki zakres różnych parametrów (przeżywanie, fizjologiczne, biochemiczne) a w przypadku zwierząt również behawioralne będą określone w standardowo określonych czasach: 4h, 24h, 48h i 72h dla zwierząt, 48h i 96h dla roślin. U roślin eksperymentalnych będzie określana biomasa liści, długość korzeni, i parametry fizjologiczne (zawartość chlorofilu, produkcja tlenu). U bezkręgowców, oprócz badania przeżywania, określone zostaną wskaźniki fizjologiczne i biochemiczne. Projekt będzie dotyczył również określenie efektów oligopeptydów i ich kombinacji z mikrocyzyną-LR i cylindrospermopsyną na linii komórkowej skrzelii i leukocytów ryb. Ponieważ wiadomo, że mikrocyzyną-LR zmienia architekturę wątroby, co może wiązać się z zaburzeniami cytoszkieletu inne oligopeptydy sinicowe mogą wywoływać podobne zmiany. Projekt dostarczy informacji, które pomogą wyjaśnić mechanizmy działania oligopeptydów sinicowych i cyjanotoksyn u testowanych organizmów. Określenie aktywności kinaz pomoże ocenić, czy oligopeptydy i ich mieszaniny z cyjanotoksynami wywołują nieprawidłowości w równowadze pomiędzy kinazami i fosfatazami. Projekt dostarczy ważnych ekotoksykologicznych danych. Wyniki wzbogacą dotychczasową wiedzę na temat oddziaływania kongenerów indywidualnych peptydów oligopeptydów sinicowych i ich mieszanin z innymi cyjanotoksynami występującymi w środowisku naturalnym. Wyniki będą również podstawą do wypracowania wytycznych do oceny ryzyka związanego z oligopeptydami sinicowymi oraz wyznaczenia najwrażliwszych parametrów modelowych organizmów jako części systemu wczesnego ostrzegania (ang. early warning systems) stosowanego do monitorowania zbiorników wodnych i hodowli ryb.