

# Značaj i primjena cijanobakterija u mikrobnj biotehnologiji

---

Sklepić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:145986>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**ZNAČAJ I PRIMJENA CIJANOBAKTERIJA U  
MIKROBNOJ BIOTEHNOLOGIJI**

**DIPLOMSKI RAD**

Lucija Sklepić

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi

**ZNAČAJ I PRIMJENA CIJANOBAKTERIJA U  
MIKROBNOJ BIOTEHNOLOGIJI**

DIPLOMSKI RAD

Lucija Sklepić

Mentor:  
Doc. dr. sc. Nataša Hulak

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Lucija Sklepić**, JMBAG 0178109292, rođena 07.03.1998. u Sisku, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**ZNAČAJ I PRIMJENA CIJANOBAKTERIJA U MIKROBNOJ BIOTEHNOLOGIJI**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE  
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studentice **Lucije Sklepić**, JMBAG 0178109292, naslova

**ZNAČAJ I PRIMJENA CIJANOBAKTERIJA U MIKROBNOJ BIOTEHNOLOGIJI**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc. dr. sc. Nataša Hulak mentor

\_\_\_\_\_

2. doc. dr. sc. Luna Maslov Bandić član

\_\_\_\_\_

3. doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur član

\_\_\_\_\_

## *Zahvala*

*Ovim putem želim se zahvaliti mentorici doc. dr. sc. Nataši Hulak na utrošenom vremenu, korisnim savjetima i razumijevanju pri vođenju izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se mojim dragim prijateljima i kolegama na pruženim savjetima, mudrostima i lijepim uspomenama tijekom našeg studiranja.*

*Posebno se želim zahvaliti roditeljima, bratu i ostatku obitelji koji su mi omogućili školovanje i uvijek bili veliki oslonac.*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OSNOVNE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA .....</b>	<b>3</b>
2.1.    Sistematika .....	3
2.2.    Morfološka građa .....	4
2.3.    Stanični metabolizam .....	7
<b>3. CIJANOBAKTERIJE U POLJOPRIVREDNOJ PROIZVODNJI.....</b>	<b>12</b>
3.1.    Rod <i>Nostoc</i> sp.....	13
3.2.    Rod <i>Anabaena</i> sp. ....	16
3.3.    Rod <i>Tolypothrix</i> sp.....	17
3.4.    Rod <i>Oscillatoria</i> sp. ....	18
<b>4. CIJANOBAKTERIJE U ZAŠTITI OKOLIŠA.....</b>	<b>21</b>
4.1.    Rod <i>Oscillatoria</i> sp. ....	23
4.2.    Rod <i>Phormidium</i> sp.....	24
4.3.    Rod <i>Synechococcus</i> sp. ....	25
<b>5. CIJANOBAKTERIJE U PROIZVODNJI HRANE .....</b>	<b>28</b>
5.1.    Rod <i>Arthrospira</i> sp.....	29
5.2.    Rod <i>Spirulina</i> sp.....	31
5.3.    Toksini cijanobakterija u hrani i vodi .....	32
<b>6. CIJANOBAKTERIJE U OSTALIM INDUSTRIJAMA .....</b>	<b>34</b>
6.1.    Cijanobakterije u farmaceutskoj industriji i medicini .....	34
6.2.    Cijanobakterije u naftnoj industriji i biorafineriji .....	36
<b>7. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>38</b>
<b>8. LITERATURA .....</b>	<b>39</b>
<b>9. Životopis .....</b>	<b>44</b>

## **Sažetak**

Diplomskog rada studentice **Lucije Sklepić**, naslova

### **ZNAČAJ I PRIMJENA CIJANOBAKTERIJA U MIKROBNOJ BIOTEHNOLOGIJI**

Stalan rast populacije uzrokuje zabrinutost vezanu uz energetske krize, proizvodnju hrane, bolesti, globalno zagrijavanje i ekološka pitanja koja zahtijevaju održiva rješenja iz prirode. Cijanobakterije se nalaze u gotovo svim staništima na Zemlji i mogu se naći u okruženjima podložnim stresnim uvjetima, kao što su pustinjska tla, ledenjaci i topli izvori. Zbog svoje velike prilagodljivosti, svestranosti, karakterističnoj strukturi stanica i proizvodnji brojnih metabolita, danas su glavni predmet istraživanja u svrhu njihove primjene u biotehnologiji. S druge strane, cijanobakterije mogu ispuštati niz cijanotoksina različitih struktura i učinaka na zdravlje ljudi i životinja. Stoga ovaj rad predstavlja pregled literatura koje opisuju upotrebu i njihov potencijal u poljoprivrednoj proizvodnji, zaštiti okoliša, prehrambenoj, farmaceutskoj industriji te u biorafineriji. U ovom radu su opisani i najvažniji rodovi za svaku pojedinu granu biotehnologije.

**Ključne riječi:** cijanobakterije, biotehnologija, metaboliti, biomasa

## **Summary**

Of the master's thesis – student **Lucija Sklepić**, entitled

### **SIGNIFICANCE AND APPLICATION OF CYANOBACTERIA IN MICROBIAL BIOTECHNOLOGY**

The constant growth of the population causes concerns related to the energy crisis, food production, diseases, global warming and environmental issues that require sustainable solutions from nature. Cyanobacteria are located in almost all Earth's habitats and can be found in stress-prone environments such as desert soils, glaciers and hot springs. Due to their high adaptability, ubiquity, the characteristic structure of cells and the production of numerous metabolites, they are now the main subject of research for their application to biotechnologies. On the other hand, cyanobacteria may release a range of cyanotoxins of different structures and effects on human and animal health. Therefore, this thesis presents an overview of literature that describes the use and their potential in agricultural production, environmental protection, food production, pharmaceutical industry and biorefinery. This thesis also describes the most important genera for each branch of biotechnology.

**Keywords:** cyanobacteria, biotechnology, metabolites, biomass

# 1. UVOD

Biotehnologija je znanost koja povezuje biološke i tehnološke znanosti kako bi pomoću organizama, stanica i njihovih derivata dobila proizvode za dobrobit čovječanstva. Prema Konvenciji o biološkoj raznolikosti biotehnologija se definira kao „svaka tehnološka primjena koja koristi biološke sustave, žive organizme ili njihove derivate za proizvodnju ili modificiranje proizvoda ili procesa za specifičnu uporabu“. Kroz povijest ljudi su koristili mikroorganizme za produljenje vijeka trajanja namirnica. Biotehnologija je znanost stara koliko i tradicija izrade kruha, vina, piva i fermentiranih proizvoda koja datiraju iz vremena starih civilizacija s područja nekadašnje Mezopotamije, Egipta i Kine (Bolf 2020). U novije doba biotehnologija sve više povezuje znanja iz područja biologije, fiziologije, biokemije, molekularne biologije, genetike, biokemijskog inženjerstva, imunologije, bioinformatike i srodnih znanosti. Prema navedenom biotehnologija se može podijeliti na klasičnu „staru“ i modernu „novu“ biotehnologiju.

Najznačajniji biotehnološki proizvodi do četrdesetih godina 20. stoljeća su pekarski kvasac, organske kiseline, razna otapala i aminokiseline. Do osamdesetih godina 20. stoljeća počeli su se proizvoditi antibiotici, enzimi, probiotici, proteini, biopolimeri biotenzidi, te nakon osamdesetih dolazi do razvijanja rekombiniranih cjepiva, biogoriva, biofarmaceutika, rekombinantnih proteina, monoklonskih tijela, biološki aktivnih tvari iz biljaka i dr.. Obzirom na širok spektar djelovanja biotehnologije, može se podijeliti i prema području primjene. Osnovna podjela, prema području primjene biotehnologije je zelena (poljoprivredna industrija), crvena (medicinska industrija), plava (akvakultura i marikultura) i bijela (industrija proizvodnje kemikalija i biofarmaceutika) biotehnologija, a razvijaju se i druge kao što su ljubičasta (zaštita intelektualnog vlasništva), žuta (proizvodnja hrane), zlatna (bioinformatika), smeđa (proizvodnja hrane u sušnim područjima) i siva (zaštita okoliša) (Bolf, 2020).

Cijanobakterije su najstariji, prokariotski, fotoautotrofni, gram-negativni mikroorganizmi, koji se nalaze u gotovo svim staništima na Zemlji. Morfološki gledano, mogu postojati kao jednostanični ili nitasti (kolonijalni) oblici. Razmnožavaju se isključivo nespolno (vegetativno) binarnom diobom, stanična stijenka im je višeslojna (sastavljena od mureinskog peptidoglikanskog sloja), sadrže pigmente kao što su klorofil a, karotenoide i fikobiline (fikobilisome). Od rezervnih supstanci mogu sadržavati  $\alpha$  glikogen  $\alpha$  granule,  $\beta$  granule (lipide), polifosfatne granule (skladištenje fosfata), cijanoficin (alternativni izvor dušika), poli- $\beta$ -hidroksibutirat (alternativni izvor ugljika) te karboksosome.

Prema fosilnim zapisima, smatra se kako su nastali prije dvije milijarde godina (Abed i sur., 2009). Najčešće cijanobakterijske strukture u fosilnim zapisima uključuju stromatolite i onkolite (Rastogi i sur., 2009). Stromatoliti fosilnih cijanobakterija koje proizvode kisik, datiraju prije 2,8 milijardi godina (Rastogi i sur., 2009). Cijanobakterije su tako mogle preživjeti u gotovo svim staništima, od oceana do slatkih voda, tla do golih stijena, pustinja do ledenjaka, vrućih izvora do arktičkih i antarktičkih jezera te u obliku endosimbionata u biljkama, lišajeva i nekoliko protista (Rastogi i sur., 2009).

Sve cijanobakterije provode oksigenu fotosintezu, ali neke vrste mogu prijeći i na tipičnu bakterijsku anoksigenu fotosintezu (koriste sulfid kao donor elektrona umjesto vode).

Pojedine cijanobakterije tvore heterociste koje imaju sposobnost fiksiranja atmosferskog dušika (posjeduju enzim nitrogenazu). Metaboliti cijanobakterija uključuju antibakterijske, antifungalne, antivirusne, antikancerogene, antiplazmodijalne, algicide i imunosupresivne tvari čijom se daljnjom preradom dobivaju različiti korisni proizvodi. Filogenetske analize cijanobakterija na temelju 16S rRNA ukazuju na raznolikost ove skupine mikroorganizama te su istraživanja u prošlim desetljećima više temeljena na njihovoj morfologiji, ekologiji, fiziologiji i filogeniji nego na njihovoj potencijalnoj primjeni u biotehnologiji. Današnja istraživanja su više usmjerena prema iskorištavanju cijanobakterija i njihovih sekundarnih metabolita u biotehnološke svrhe. Stoga je glavna ideja ovog preglednog rada prikazati njihovu primjenu i značaj u biotehnologiji.

## 2. OSNOVNE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA

### 2.1. Sistematika

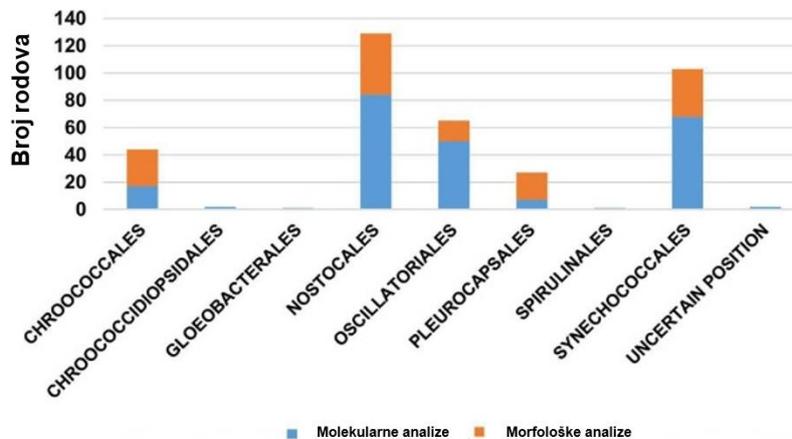
Cijanobakterije su morfološki najraznovrsnija skupina među prokariotima. Evolucijski odnosi i opisivanje raznolikosti ove domene veoma je izazovno i zahtjevno s obzirom na njihovu veliku bioraznolikost i rasprostranjenost u različitim uvjetima okoliša. Iako su cijanobakterije evolucijska i ekološki važna skupina organizama, postoje značajne praznine u pogledu njihove taksonomije i sistematike. Jedan od problema su otežani uvjeti i simulacija uzgoja prirodnog okruženja ekstremnih uvjeta odnosno njihova nemogućnost kultivacije nekultiviranih vrsti.

Tijekom većeg dijela 19. i 20. stoljeća taksonomija cijanobakterija zasnivala se gotovo u potpunosti na morfologiji. Njihova se klasifikacija u početku zasnivala na Međunarodnom kodeksu botaničke nomenklature (ICBN-International Code of Botanical Nomenclature) (Dvorak i sur. 2018). Kasnije, uviđanjem prokariotske prirode, klasifikacija se prebacuje na Međunarodni kodeks nomenklature prokariota (ICNP- International Code of Nomenclature of Prokaryotes) (Hentschke i Watson 2022.). Na temelju njihove morfologije dijelile su se u tri glavne skupine: kokoidni tipovi s jednostaničnim ili kolonijalnim oblicima, heterocitni filamenti (fiksiraju dušik u heterocitima) i neheterocitni filamenti koji su predstavljali ne specijalizirane stanice. Krajem 70-tih godina, od kako je općeprihvaćen opis prema Međunarodnom kodeksu nomenklature prokariota, ovi organizmi su se počeli intenzivnije proučavati polifaznom taksonomijom koja ih karakterizira prema ekološkim, morfološkim i biokemijskim značajkama, ali uglavnom korištenjem molekularnih metoda (Hentschke i Watson 2022.). Pojavom moderne tehnologije tijekom posljednja dva desetljeća, sekvenciranje gena 16S rRNA osiguralo je obilne količine podataka među kojima se pokazalo da pojedine morfološke značajke ne moraju nužno odgovarati filogenetskim konstrukcijama molekularnih metoda. Tako su kokoidni oblici blisko povezani s heterocitnim i neheterocitnim filamentima, primjerice heterocitni monofilament reda *Nostocales* blisko je povezan s kokoidnim rodом *Chroococcidiopsis* (Hentschke i Watson 2022.). Kombinacija ovih suvremenih metoda s proučavanjem tradicionalne morfološke i ekološke raznolikosti cijanobakterija, te redefiniranje tipičnih svojstava i markera cijanobakterijskih entiteta u različitim biotopima neizbježni su taksonomski kriteriji za primarnu klasifikaciju. Međutim, molekularni podaci često ukazuju na taksonomski sustav cijanobakterija koji nije u skladu s njihovom morfologijom, iako su oba važna obilježja za konačnu procjenu. Ovakav priljev podataka također je pridonio velikoj taksonomskoj zbrci kod prepoznavanja i određivanja vrsta mnogih rodova. Trenutno je polifazni pristup, uključujući i fenotipske i genetske analize, najprihvaćenija metoda za klasifikaciju cijanobakterija.

Iako je broj istraživanja bioraznolikosti cijanobakterija u porastu, ukupan broj vrsti u različitim taksonomskim skupinama ostaje nepredvidljiv. Procjene ukupnog broja vrsta cijanobakterija kreću se od 2000 do 8000 vrsta od kojih polovica tek treba biti opisana (Nabout i sur. 2013.).

Prema Hentschke i Watson (2022.) trenutačno cijanobakterije broje 1468 opisanih vrsta, 374 roda, 56 porodica te osam redova koji su potvrđeni molekularnim metodama, filogenetske analize položaja 16S rDNA. *Nostocales* je najraznovrsniji red s 84 roda, a slijede ga

*Synechococcales* i *Oscillatoriales* (Slika 1). Molekularna istraživanja odgovorna su za veliki porast broja taksona opisanih od 2010. godine, tako su opisana gotovo 154 novih rodova što predstavlja 46% ukupne poznate bioraznolikosti cijanobakterija (Hentschke i Watson 2022.).



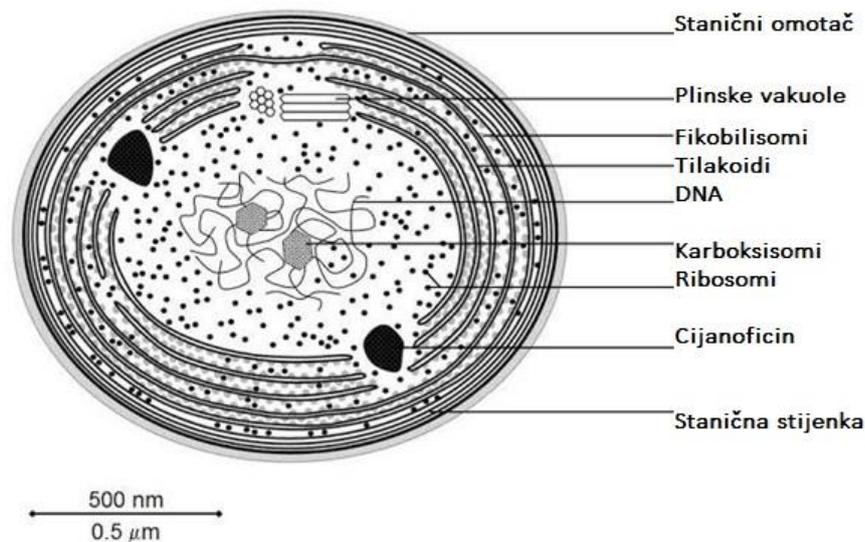
Slika 1. Odnos između broja postojećih morfogenara i rodova potvrđen od strane filogenije 16S rDNA u redovima cijanobakterija. Prilagođeno iz Hentschke i Watson (2022.).

## 2.2. Morfološka građa

Cijanobakterije su prokariotski, gram-negativni te fotoautotrofni mikroorganizmi koji su prilagodljivi različitim specijaliziranim ekosustavima. Morfološki obitavaju jednostanično, nitastog, kolonijalnog pravilnog i kolonijalnog nepravilnog oblika.

Većina cijanobakterija posjeduje stanični omotač kojeg čini higroskopska želatinozna ovojnica. Ovojnica se sastoji u pravilu od tri sloja mikrofibrila koji su građeni od pektinske kiseline i mukopolisaharida (Sahoo 2022.). Omotači su mrežasto raspoređeni unutar matrice čija je funkcija upijanje i zadržavanje vode te daju homogeni izgled. Shematski prikaz građe cijanobakterije prikazan je na slici 2.

Stanica cijanobakterije okružena je mureinskom staničnom stijenkom koju čini higroskopska četveroslojna, želatinozna ovojnica. Građena je od peptidoglikanskih N-acetilglukozamin lanaca i N-acetil-muraminske kiseline. Prvi i drugi slojevi su elektronski gusti te su debljine 3-10nm, dok su treći i četvrti slojevi porozni za elektrone debljina 10-1000nm te 3-10nm (Sahoo 2022.). Treći sloj ovojnice sastoji se od muraminske kiseline, glutaminske kiseline, alanina, glukozamina i  $\alpha$ -di-amino-pamelinske kiseline. Iako se cijanobakterije aktivno ne pokreću, kod onih koje se „oscilatorički gibaju“ postoje još dva sloja, S-sloj i vlaknasti sloj koji sadrže pore. Pojedine cijanobakterije sadrže na površini stanice i proteinske nastavke – pile. Mnoge sadržavaju glikopolisaharidni sloj – galertu (slika 3).



Slika 2. Građa cijanobakterijske stanice. Izvor: Pandey 2020.



Slika 3. *Chroococcus turgidus* obavijen galertom. Izvor: prezentacija Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matemaBčki fakultet, Biološki odsjek.

Ispod stanične stijenke nalazi se tanka citoplazmatska membrana. Ima debljinu 7nm, selektivno je propusna i održava fiziološki integritet stanice.

Citoplazma je diferencirana u dva područja, vanjsko periferno područje (kromoplazma) i središnje tijelo (centroplazma) (Sahoo 2022.).

Kromoplazma sadrži spljoštene vezikularne strukture, tilakoidi ili lamele. Lamelle su raspoređeni u više paralelnih hrpa ili su nepravilno razbacane te je svaka lamela okružena jedinstvenom membranom debljine 75 Å. Lamelle su odvojene razmakom kojeg upotpunjava citosol koji sadrži ribosome, karboksisome, granule glikogena, granule cijanoficina, lipidna tjelešca, polifosfatna tjelešca, pigmente fikobilisome; fikocijanin, fikoeritrin, alofikocijanin i fikoeritrocijanin. Fikobilisomi su strukture koje sakupljaju svjetlost, povezane s fotosustavom II (PSII), apsorbiraju vidljivu svjetlost u rasponu od 450-660 nm (Sciuto i Moor 2015.).

Centroplazma ili središnje tijelo, nepravilnog je oblika, bez membrane te u središtu stanice sadržava prstenastu dvolančanu molekulu DNA-nukleotid. Nukleotid je tipične gole DNA strukture kao u prokariota s ribosomima veličine 70's.

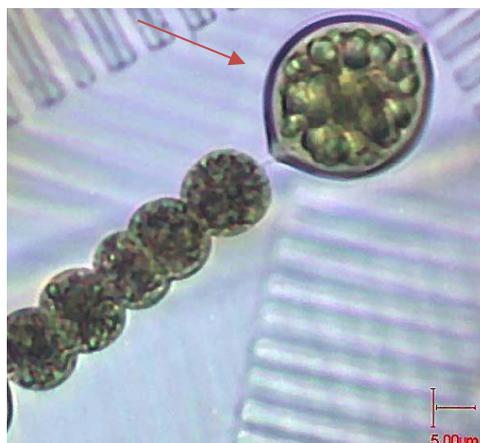
Citoplazmatske inkluzije raspoređene su po cijeloj protoplazmi te su manji nego kod eukariota. Tu spadaju vakuole, ribosomi, karboksisomi, cianoficin (alternativni izvor dušika),  $\alpha$  glikogen  $\alpha$  granule,  $\epsilon$  granule-lipidi, poli- $\epsilon$ -hidroksibutirat granule (alternativni izvor ugljika), polifosfatne granule (skladište fosfata) i druga skladišna tjelešca.

Razmnožavanje cijanobakterija odvija se isključivo vegetativno. Kod jednostaničnih oblika odvija se binarnom diobom nakon replikacije DNA, dok se kod nitastih oblika razmnožavaju akinetama i hormogonijima (hormociste).

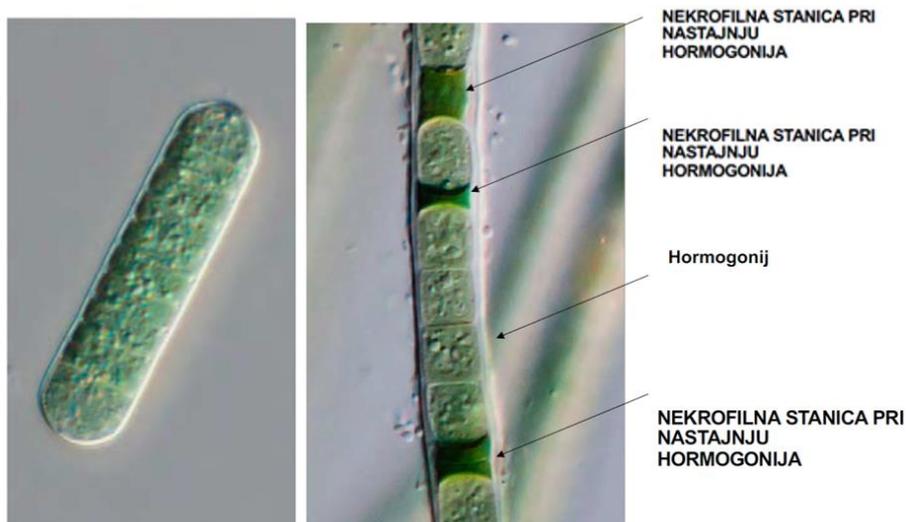
Akinete (slika 4) su trajne spore nastale iz vegetativne stanice. Pretpostavlja se da su akinete evolucijski prethodnici heterocista (Meeks i Elhai 2002.). Građom je krupnija od matične stanice, sadrži zadebljanu staničnu stijenku bez pora koja je bogata hranjivim tvarima (cijanoficinskim zrcima), raspored tilakoida je kao i u vegetativnim stanicama a DNA je 20-30 puta veća što joj omogućuje preživljavanje u nepovoljnim uvjetima kroz duže vremensko razdoblje.

Hormogonij (hormociste) (slika 5) su kratki pokretni filamenti koji se oslobađaju iz roditeljskih filamenata cijanobakterija. Pokretljivost im omogućuje protein oscilin međutim mehanizam kojim se pokreće još nije poznat. Kod nekih vrsta stanice sadrže i plinske vakuole koje kontroliraju plovnost. Hormogonije igraju glavnu ulogu u širenju filamentoznih cijanobakterija na kratke udaljenosti te mnogi sojevi pokazuju pozitivnu fototaksiju. Ne fiksiraju dušik niti rastu (Meeks i Elhai 2002.).

Heterociste (slika 6) ovise o susjednim vegetativnim stanicama za svoju prehranu. Nastaju diobom susjednih vegetativnih stanica u području citoplazmatskih konektiva. Sadrže debelu stijenku koje su propusne za dušik, ali nepropusne za kisik. Sadrže enzim nitrogenazu pomoću kojeg reduciraju atmosferski dušik u amonijak odnosno provode fiksaciju dušika. Od vegetativnih stanica razlikuju se veličinom (krupnije su), bojom (ne sadrže fikobiline) te sadržajem (ne sadrže rezervne tvari). Utvrđeno je oko 120 vrsta koje vežu atmosferski dušik (uglavnom slatkovodni oblici).



Slika 4. Akineta - trajna spora nastala iz vegetativne stanice. Izvor: prezentacija Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno- matematički fakultet, Biološki odsjek.



Slika 5. Hormogonij - pokretni filamenti stanica koje tvore cijanobakterije redova *Nostocales* i *Stigonematales*.  
Izvor: Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno- matematički fakultet, Biološki odsjek.



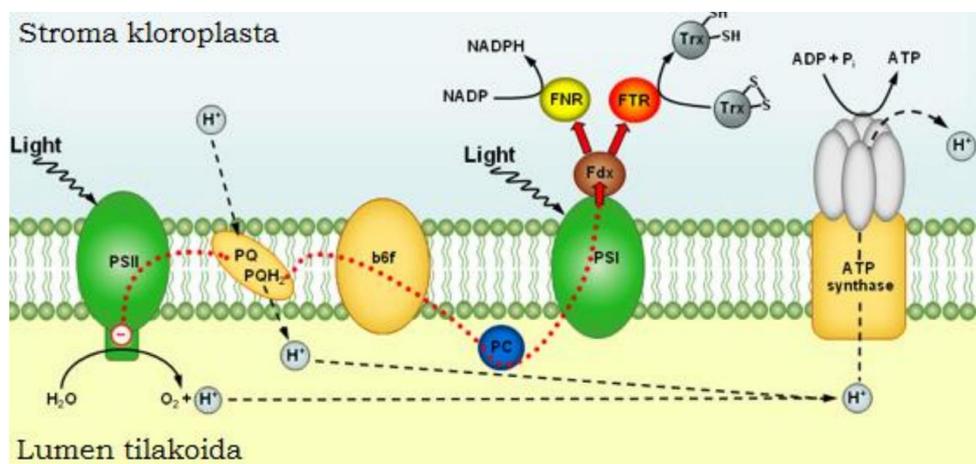
Slika 6. Heterocista - specijalizirana stanica u kojoj se odvija fiksacija dušika. Izvor: Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek.

### 2.3. Stanični metabolizam

Cijanobakterije su jedni od najstarijih primarnih proizvođača na Zemlji, koji imaju sposobnost fotosinteze odnosno, preciznije, transformacije Zemljine atmosfere u atmosferu prikladnu za aerobni metabolizam i složen život. Tijekom vremena, cijanobakterije su razvile raznolike skupine organizama koji su kolonizirali većinu vodenih i zemljišnih ekosustava i čine veliki udio biomase koji održava biosferu. Većina cijanobakterija su fotoautotrofi, dobivaju energiju iz ugljikovog dioksida, vode, anorganske tvari i svjetlosti. Cijanobakterije koje obitavaju u prostorima bogatim sulfidima imaju mogućnost prebacivanja između oksigene i anoksiogene fotosinteze koja se oslanja samo na PSI (Veaudor i sur. 2020.). U mraku je uobičajeni način metabolizma aerobno disanje, dok vrste koje su često izložene

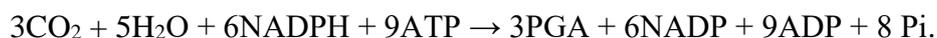
anaerobnim uvjetima imaju sposobnost fermentacije spojeva za unutrašnje skladištenje ugljika, glikogena i sl. (Veaudor i sur. 2020.).

Fotosinteza se odvija u tilakoidima (Slika 7), a stanično disanje u citoplazmatskoj i tilakoidnoj membrani izuzev članova roda *Gloeobacter*, koji posjeduju samo citoplazmatsku membranu (Veaudor i sur. 2020.). Sunčevu svjetlost primaju preko klorofila i fikobiliproteina koji predstavljaju „antenski kompleks“. Sunčeva energija koja se uhvatila za „antenski kompleks“ dalje se prenosi na fotosustav II (PSII) gdje se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reducira na O<sub>2</sub>. Četiri elektrona visoke energije, zajedno s četiri protona, koriste se za redukciju plastokinona koji je ujedno i krajnji akceptor elektrona PSII u plastokinol. Plastokinol dalje prosljeđuje svoje redukcijske ekvivalente u fotosustav I (PSI) gdje dobivaju dodatni redukcijski potencijal iz druge svjetlosne reakcije za generiranje ATP-a i NADPH-a. Ova kemijska energija potiče asimilaciju anorganskih hranjivih tvari; CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, SO<sub>4</sub>, i dr. metale i minerale (Cu, Ca, Mg, Fe, K, P, itd.).



Slika 7. Transport protona i elektrona na tilakoidnoj membrani. Izvor: Hanzer 2016.

Fiksacija ugljika nedvojbeno je jedan od najvažnijih metaboličkih procesa na Zemlji. Veliki dio biološke fiksacije CO<sub>2</sub> provodi se Calvin-Benson-Basshamov ciklusom (Calvinov ciklus) koji koristi ATP i reducirani NADPH za transport elektrona pri čemu je ključan enzim ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza (RubisCO) (Veaudor i sur. 2020.). RubisCO katalizira karboksilaciju molekule šećera s 5 ugljika (1,5-ribuloza bisfosfat (RuBP)) dodavanjem jedne molekule CO<sub>2</sub> kako bi se stvorile dvije molekule 3-fosfoglicerat s tri ugljika (3PGA). 3PGA prolazi kroz niz pretvorbi kako bi se formirao šećer sa šest ugljikovih atoma (fruktoza-1,6 bisfosfat (FBP)) te regenerirao ribuloza-1,5-bisfosfat (RuBP) čime se Calvinov ciklus zatvara. Neto Calvinova ciklusa dana je sljedećom jednadžbom:

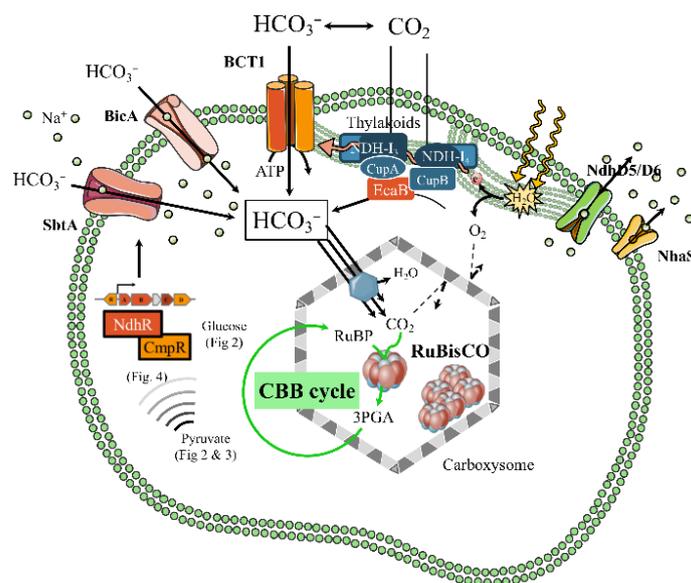


Obzirom na njegovu ključnu ulogu, RubisCO je iznenađujuće neučinkovit kao enzim (Veaudor i sur. 2020.). U biljkama je njegova katalitička brzina veoma spora. Cijanobakterijski RubisCO je nešto drugačiji i učinkovitiji. Enzim RubisCO ne može razlikovati O<sub>2</sub> od CO<sub>2</sub>. Njegova aktivnost fotorespiracije pokreće oksigenaciju RuBP-a koja

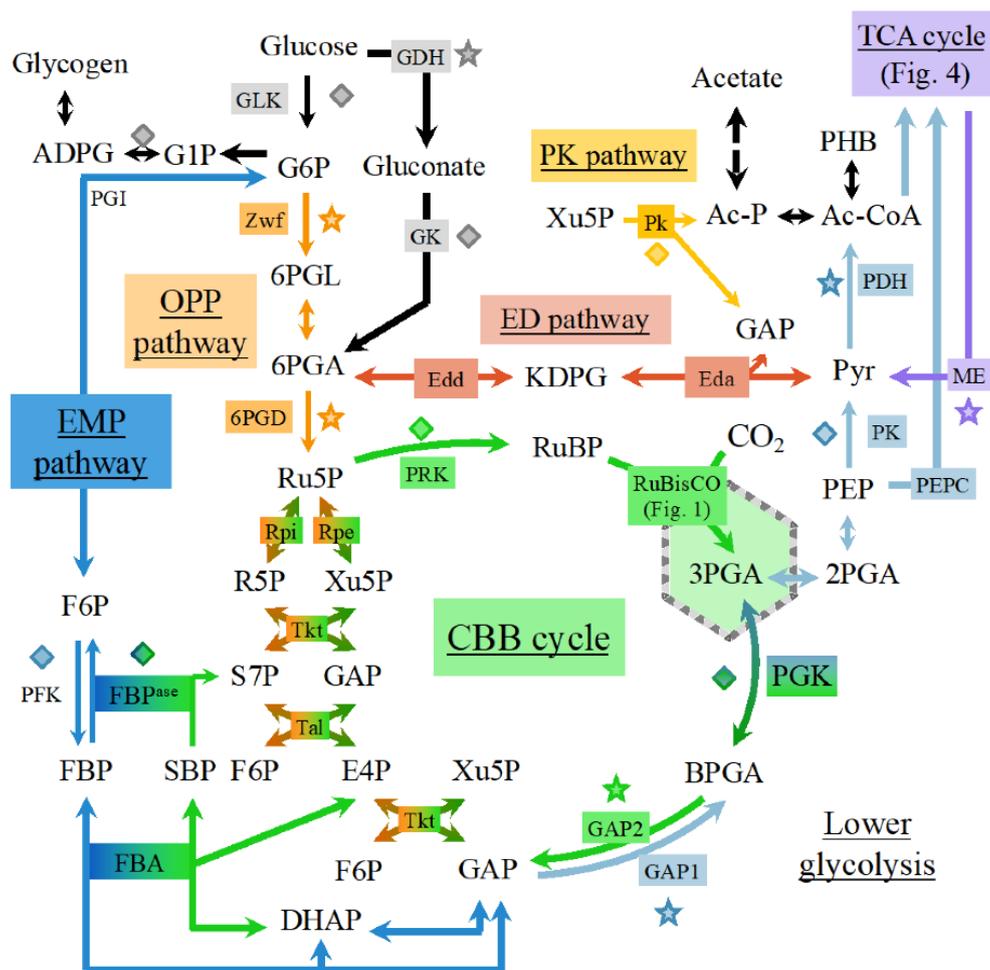
stvara po jednu molekulu 3PGA i 2-fosfoglikolata (2PG). Budući da je 2PG toksičan, cijanobakterije su razvile strategije za recikliranje dvije molekule 2PG u jednu molekulu 3PGA, uz oslobađanje CO<sub>2</sub>. Stoga se 75% organskog ugljika spašava i koristi za sintezu RuBP-a i ponovno pokretanje Calvinovog ciklusa (Veaudor i sur. 2020.). Nekoliko se strategija koristi za povećanje aktivnosti cijanobakterijskog RubisCO u biotehnoške svrhe, kao što je, na primjer stvaranje mutanata praćeno procesom selekcije, kako bi se identificirali mutirani proteini sa željenim svojstvima.

Da bi se favorizirala aktivnost RubisCO karboksilaze u odnosu na njegovu aktivnost oksigenaze, cijanobakterije su razvile mehanizam koncentriranja ugljika - karboksisomima. Membrana karboksisoma pogoduje selektivnom ulasku nabijenih molekula RuBP-a i bikarbonata (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), u odnosu na nenabijene molekule O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>. Difuzija CO<sub>2</sub> kroz karboksisom znatno je sporija nego CO<sub>2</sub> koji prolazi staničnu membranu. Nakon toga, karbonska anhidraza (CA) katalizira hidrataciju CO<sub>2</sub> i dehidraciju HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> unutar lumena karboksisoma kako bi se CO<sub>2</sub> akumulirao u blizini RubisCO, koji fiksira CO<sub>2</sub> da bi se stvorio 3-fosfoglicerat (3PGA) koji zatim napušta karboksisom te se pretvara u šećere citosolnim enzimima Calvinovog ciklusa. Veaudor i sur. (2020.) navode postojanje dvije vrste karboksisoma, α-karboksisomi prisutni u α-cijanobakterijama (marinske cijanobakterije) i β-karboksisomi prisutni u β-cijanobakterijama (slatkovodne cijanobakterije). Osnovni geni za α-karboksosome i β-karboksosome kodirani su *cso* i *ccm* operonima (Veaudor i sur. 2020.). Shematski prikaz mehanizma koncentracije ugljika može se vidjeti na slici 8. Još jedan važan igrač u fiksaciji CO<sub>2</sub> je fosfoenol-piruvat-karboksilaza.

Za Pojavu višestrukih glikolitičkih puteva odgovorna je prilagodba cijanobakterija na različite okolišne i stresne uvjete. Posjeduju sve poznate glikolitičke varijante puteva; EMP (Embden–Meyerhof–Parnas), OPP (Oxidative Pentose Phosphate), PK (Phosphoketolase) i ED (Entner-Doudoroff) put (Veaudor i sur. 2020.). Svi oni dijele reakcije i metabolite s Calvinovim ciklusom i osiguravaju ATP, NAD(P)H i prekursore ugljika za sintezu aminokiselina, nukleotida i masnih kiselina. Shematski prikaz glikolitičkih puteva može se vidjeti na slici 9.

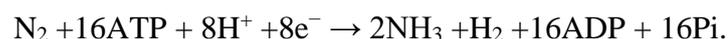


Slika 8. Shematski prikaz mehanizma koncentriranja ugljika u *Synechocystis* PCC6803. Izvor: Veaudor i sur.



Slika 9. Shematski prikaz glikolitičkih puteva: EMP, PK, ED i OPP u *Synechocystis* PCC6803. Izvor: Veaudor i sur. 2020.

Dušik je drugi najzastupljeniji element u živim stanicama i prisutan je u aminokiselinama, nukleotidima i staničnoj stijenci (peptidoglikan). Kod cijanobakterija, dušik se akumulira u pigmentima koji prikupljaju svjetlost (klorofil, fikocijanin, fikoeritrin) te se pohranjuje u obliku cijanoficina. Cijanobakterije kao izvor dušika mogu koristiti amonijak, nitrate ili nitrite, a neke vrste mogu asimilirati ureu, aminokiseline ili vezati atmosferski dušik  $N_2$ . Kako je  $N_2$  vrlo stabilan, fiksacija jedne molekule  $N_2$  katalizirana enzimom nitrogenazom energetski je skupa:



Budući da je enzim nitrogenaza nepovratno inhibiran kisikom, cijanobakterije koje fiksiraju  $N_2$  (diazotrofne) razvile su nekoliko strategija za zaštitu svoje nitrogenaze od  $O_2$ . Mnoge diazotrofne filamentozne cijanobakterije, kao što je *Nostoc* sp., reagiraju na smanjenje dušika diferenciranjem (nepovratno) nekih svojih vegetativnih stanica u heterociste (Veaudor i sur. 2020.). Nadalje, heterociste zadržavaju fotosustav I za prikupljanje svjetlosti i proizvodnju kemijske energije (ATP), ali nemaju fotosustav II koji proizvodi  $O_2$ . Stoga ne mogu generirati

elektrone iz vode i ovise o reduciranom (organskom) ugljiku o svojim susjednim vegetativnim stanicama. Druge, morske neheterocitne cijanobakterije koje pripadaju rodu *Trichodesmium* sp. također mogu fiksirati N<sub>2</sub> u potpuno aerobnim uvjetima dok istovremeno fotosintetski razvijaju O<sub>2</sub> pomoću jedinstvenih stanica za fiksiranje dušika - diazocita (Sciuto i Moor 2015.). Posljedično, cijanobakterije su razvile sofisticirani regulatorni sustav za održavanje omjera ugljika i dušika od oko pet prema jedan, što implicira da za pet molekula CO<sub>2</sub> mora biti asimilirana jedna molekula amonijaka (Veaudor i sur. 2020.). Cijanobakterije suočene s neravnotežom ugljika-dušika mogu proizvesti egzopolisaharide i biorazgradivu plastiku koja je od velikog biotehnološkog interesa.

### 3. CIJANOBAKTERIJE U POLJOPRIVREDNOJ PROIZVODNJI

Cijanobakterije su organizmi koji se potencijalno koriste kao hrana, prvenstveno stočna hrana i gorivo. Jedinstvena svojstva cijanobakterija uključuju kratka generacijska vremena, njihovu sveprisutnost i učinkovit potencijal vezanja atmosferskog dušika. Ovi jedinstveni organizmi provode fotosintezu, bioremedijaciju otpadnih voda, proizvode visoke količine biomase i biogoriva. Biomase cijanobakterija koriste se kao biognojiva za poboljšanje hranjivog ili mineralnog statusa i sposobnosti zadržavanja vode u tlu. Mogu izravno ili neizravno povećati stopu rasta biljaka: izravno, kroz proizvodnju biološki aktivnih tvari za poticanje rasta kao što su fitohormoni (auksini, giberelini i citokinini) i neizravno kada cijanobakterije sprječavaju propadanje biljaka uzrokovano jednim ili više patogenih mikroorganizama (Múnera-Porrás i sur. 2020.). Stara primjena cijanobakterija u agroekosustavima kao biognojiva (*Anabaena* sp, *Nostoc* sp.) i u industrijskim sektorima kao prehrambeni proizvodi (*Spirulina*) motivirali su znanstvenike da dođu do mnogo specifičnijih primjena cijanobakterija u poljoprivrednim i industrijskim sektorima. U 1950-ima započeta je primjena osušene cijanobakterijske biomase na tlo i nazvana 'algalizacija' (Garlapati i sur. 2019.). Ovaj proces pomogao je u donošenju promjena koje se odnose na plodnost tla i poboljšanju produktivnosti usjeva za 15-20% u poljskim eksperimentima. Štoviše, metoda je vrlo prirodna i najčešće ne zahtijeva velike ekonomske inpute. Uloga i korist pojedinih vrsti cijanobakterija u poljoprivrednoj proizvodnji prikazana je u tablici 1.

Tablica 1. Uloga pojedinih cijanobakterija u poljoprivrednom sektoru. Izvor: Múnera-Porrás i sur. 2020.

ORGANIZAM	TIP	USJEV
<i>Anabaena</i> sp.	Biognojivo	<i>Oryza sativa</i> L.
<i>Anabaena laxa</i>	N dodatak	<i>Cicer arietinum</i> L.
<i>Anabaena</i> sp.	Promotor rasta	<i>Zea mays</i> L.
<i>Anabaena azollae</i>	N dodatak	<i>Oryza sativa</i> L. <i>Zea mays</i> L. <i>Saccharum officinarum</i>
<i>Anabaena</i> sp.	N dodatak	<i>Zea mays</i> L. hibridi
<i>Oscillatoria</i> sp.	Obnova tla	Gnojidba tla
<i>Oscillatoria curviceps</i>	Promotor rasta	<i>Hordeum vulgare</i>
<i>Oscillatoria nigra</i>		<i>Triticum aestivum</i>
<i>Oscillatoria princeps</i>		<i>Zea mays</i> L.
<i>Phormidium kutzing</i>	Obogaćuje tlo	Biološka komponenta tla
<i>Nostoc</i> sp.	Obnova tla	Biološka komponenta tla
<i>Nostoc commune</i>	Obnova tla	Biološka komponenta tla
<i>Nostoc commune</i> Tubt 05	Biognojivo	<i>Oryza sativa</i> L.

Sadašnje prakse upravljanja tлом (anorganska gnojiva i kemikalije za zaštitu bilja) poboljšale su količinu proizvodnje hrane. Međutim, produljena uporaba ovih sintetskih metoda izaziva zabrinutost oko produktivnosti tla i kvalitete okoliša i njihovih suradnika. Kako bi se riješio

problem antropogenog utjecaja, razvoj biotehnologije okreće se biološkim rješenjima koji nisu samo ekološki prihvatljiva, već su i isplativa. Te metode trebale bi obećati dugoročnu produktivnost i sigurnost hrane. Ciljevi održive poljoprivrede trebaju biti proizvodnja zdrave hrane, očuvanje ekosustava i postizanje dugotrajne ekonomske održivosti (Garlapati i sur. 2019.). Cijanobakterije su jedan od visoko cijenjenih korisnih mikroorganizama koji imaju nekoliko namjena u poljoprivrednom sektoru. Slično drugim prokariotskim bakterijama, cijanobakterije se sve više primjenjuju kao bioinokulanti za poboljšanje plodnosti tla i kvalitete okoliša. Ovi su organizmi naširoko prisutni u različitim vrstama tla (od pustinjskih do močvarnih tla) i odgovorni su za postizanje pozitivnih rezultata u različitim ekološkim situacijama. Korištenjem cijanobakterija nude se sljedeće koristi za agroekosustav:

- Stimulacija rasta biljaka,
- Poboljšanje fizikalno-kemijskih uvjeta tala,
- Zaštita biljaka od patogenih insekata i bolesti kao sredstva za biokontrolu,
- Poboljšana solubilizacija i pokretljivost hranjivih tvari ograničene opskrbe,
- Mineralizacija organskih molekula kao što su aminokiseline za izravni unos,
- Stvaranje kompleksa teških metala i ksenobiotika kako bi se ograničila njihova mobilnost i transport u biljkama (Singh i sur. 2016.).

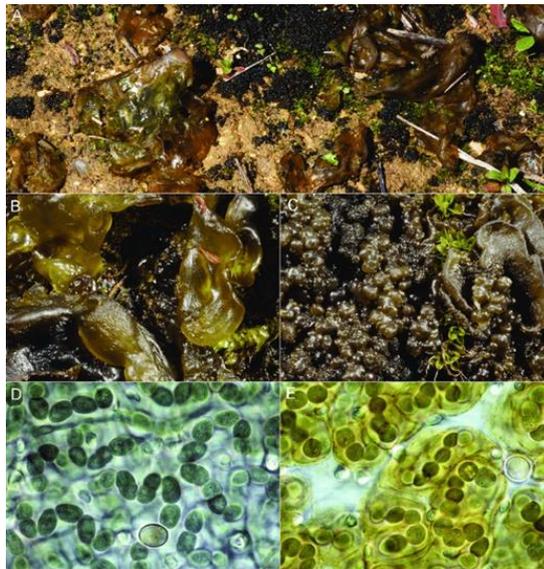
Cijanobakterije imaju potencijalnu ulogu u obnavljanju zaslanjenih tla, sušnih ili subaridnih tala. Kemijske metode korištenja gipsa, sumpora ili prekomjernog navodnjavanja nisu toliko isplativa niti ekološki prihvatljiva za melioraciju zemljišta zahvaćenog solju. Nadalje, cijanobakterije se mogu i genetski modificirati kako bi se potencijalno povećao njihov rast i fotosintetska učinkovitost, prinos biomase, produktivnost lipida i ugljikohidrata, poboljšala temperaturna tolerancija i smanjila fotoinhibicija i fotooksidacija (Singh i sur. 2016.).

S obzirom na široku djelotvornost i učinkovitost cijanobakterija, ova cjelina navodi istaknute rodove i njihove kvalitete te potencijalnu primjenu u poljoprivrednoj industriji za dobrobit ljudi i okoliša.

### **3.1. Rod *Nostoc* sp.**

*Nostoc* sp. karakterizira kolonizirane lance koji su grupirani u želatinastu masu (Slika 10). Razmnožava se vegetativno stvaranjem spora, fragmentacijom. Također se deklariraju kao PGPR (*Plant growth-promoting rhizobacteria*) bakterije, odnosno proizvode hranjive tvari i hormone, u području rizosfere, koji neizravno utječu na rast biljaka. Poznati su po sposobnosti tvorbe hormocita (hormospora) koje joj omogućavaju preživljavanje sušnih i drugih nepovoljnih uvjeta. Plastide nema, dok je prisutno nekoliko malih granula, u nekim se vrstama pronalazi i pseudovakuola. Od pigmenta sadržava plavi fikocijanin, crveni fikoeritrin i klorofil te ima sposobnost fiksiranja atmosferskog dušika, koji se odvija u heterocistama. Stanište im je raznoliko te su raširene diljem svijeta; u slatkoj vodi, tlima i na izuzetno hladnim i sušnim staništima. Imaju sposobnost simbiotske interakcije s gljivama

(lišajevi), mahovinama i papratima, a vrlo rijetko mogu se naći i na kori drveća. Uobičajene vrste su *Nostoc rivulare*, *N. carneum*, *N. entophytum*, *N. commune*.



Slika 10.( A, B, C) *Nostoc* sp. u formaciji lišaja, (D, E) prikaz mikroskopskih oblika. Preuzeto iz [https://www.researchgate.net/figure/Free-living-and-lichen-symbiotic-Nostoc-strains-A-Free-living-Nostoc-colonies-and\\_fig2\\_236316484](https://www.researchgate.net/figure/Free-living-and-lichen-symbiotic-Nostoc-strains-A-Free-living-Nostoc-colonies-and_fig2_236316484) Pristupljeno: 13.05.2022.

Uloga N-fiksirajućih cijanobakterija (slobodnoživućih diazotrofa) u poboljšanju plodnosti rižinih polja opće je poznata. U simbioznim odnosima doprinose značajno povećanje razini dušika i organskih tvari čime poboljšavaju fizikalno-kemijska svojstva tla, isključivo na račun energije proizvedene iz fotosinteze (Sinha i sur. 1999.). Međutim, na održivost i potencijal fiksiranja dušika utječu čimbenici abiotičkog stresa tj. uporaba herbicida i dušičnih gnojiva koji uništavaju biotop te potiskuju aktivnost nitrogenaze cijanobakterija. Primjerice, vrsta *Nostoc sphaeroides* prirodno se nalazi u poljima riže, no Ma i sur. (2015.) navode kako je zbog uporabe dušičnih gnojiva i uree, njihov broj znatno smanjen na terenu. Kako bi se izbjeglo narušavanje prirodne mikrofaune, u svome istraživanju navode preporuku o uporabi organskih gnojiva, na bazi *Nostoc* sp. u biognojivu. Osim u sustavu uzgoja riže, cijanobakterije povećavaju količinu dušika i ugljika, ali i produktivnost i plodnost tla kod uzgoja pšenice (Prasanna i sur. 2012.).

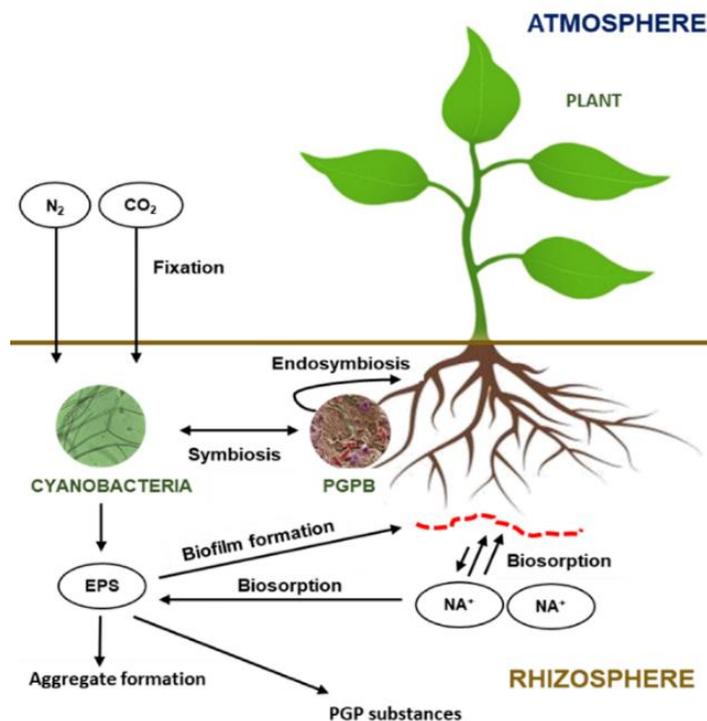
Ispitivanje Mu'nera-Porras i sur. (2020.) upućuje i na solubilizaciju fosfata u tlu, dvaju izoliranih soja *Nostoc* sp.. Kada se fosfat asimilira u stanicama tijekom rasta i zatim otpusti, izlazi u obliku topivog organskog fosfata uzrokujući povećanje dostupnih fosfata i organskih kiselina u tlu.

Istraživanje Silva i sur. (1998.) usporedili su prikladnost cijanobakterijskog ekstrakta (*Nostoc* sp.) i kvasnog ekstrakta u svrhu izrade hranjive podloge za uzgoj pojedinih rizobija. Istraživanje se vršilo na brzorastućoj vrsti *Rhizobium etli* koja je davala pozitivne rezultate rasta, dok kod spororastućeg *Bradyrhizobium japonicum* nije podržavala rast. Također ukazuju na nutritivni status kojeg pruža cijanobakterijski ekstrakt te koji potencijalno jamči genetsku stabilnost rizobijalnih stanica za indukciju djelotvornih nodula. Uz navedeno, Silva i

sur. (1998.) ističu da su cijanobakterijski ekstrakti posebno prikladni za stvaranje drugih vrijednih kemijskih proizvoda poput vitamina, enzima, masnih kiselina i polipeptida.

Zaslanjivanje tla predstavlja važnu prijetnju kopnenim ekosustavima te se očekuje njeno povećanje kao posljedica klimatskih promjena i antropogenih čimbenika. Kao noviji biotehnološki alat za poboljšanje uvjeta zaslanjenih tala pojavila se uporaba cijanobakterija. Cijanobakterije se distribuiraju u širokom rasponu koncentracija soli i nekoliko vrsta može se prilagoditi promjenjivim uvjetima slanosti. Njihova primjena u remedijaciji zaslanjenih tala u poljoprivredi dokazana je uglavnom u laboratorijskim istraživanjima. Rocha i sur. (2020.) navode pojedine cijanobakterijske vrste (vrste roda *Nostoc* i *Anabaena*) koje posjeduju jedinstvene sustave za sanaciju tla pogođena solju. Oslobođene polimerne tvari vežu natrijeve ione i formiraju biofilmove, štiteći tako biljku od stresa soli (Rocha i sur. 2020.). Ova se sposobnost proteže na cijanobakterijske trihome koji uklanjaju topljivi natrij iz tla putem biosorpcije. Osim navedenog, polimerne tvari potiču stvaranje i stabilnost agregata u tlu. Mehanizam desalinizacije prikazan je na fotografiji 11.

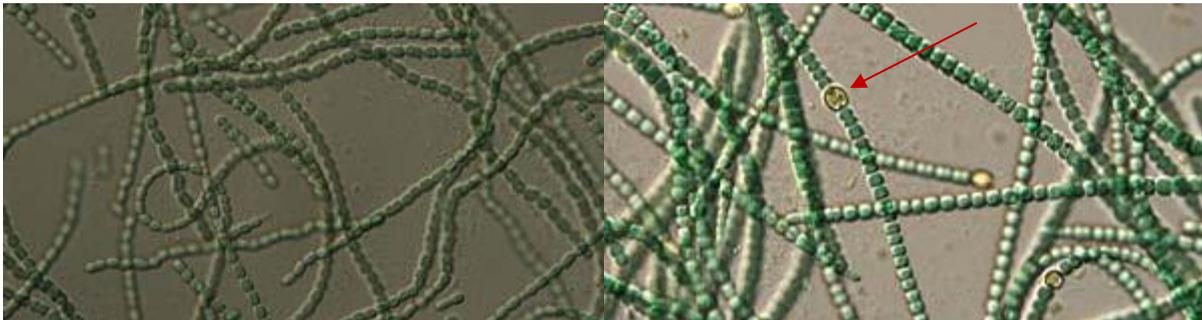
Cijanobakterije su poznate i po proizvodnji toksičnih spojeva (mikrocistina), koji su sve veći ekološki problem kao posljedica njihove masovne pojave u vodenim staništima. Mikrocistini su grupa cikličkih heptapeptida koji izazivaju trovanje domaćih i divljih životinja te djeluju toksično na jetru čovjeka (hepatoksični spojevi). Pojedini sojevi iz roda *Nostoc* proizvode mikrocistine, a izolirani su iz asocijacije lišaja koji proizvodi šest različitih mikrocistina (Oksanen i sur. 2004.). Nadalje, Nowruzi i sur. (2012.) utvrdili su uzrok trovanja domaćih životinja u okolini rižinog polja Irana upravo vodenim cijanobakterijama roda *Nostoc*. Rezultati polifaznog pristupa kroz morfološke i molekularne analize pokazali su da je najbliži srodnik (prema bazi podataka sekvenci gena 16S rRNA) bio *Nostoc calcicola*. Međutim, ovaj rod proizvodi i velik broj sekundarnih metabolita koji imaju antikancerogena, antibiotska, antifungalna i antivirusna svojstva što je detaljnije opisano u cjelini 6.



Slika 11. Mehanizam desalinizacije tla cijanobakterijama. Izvor: Rocha i sur. 2020.

### 3.2. Rod *Anabaena* sp.

*Anabaena* sp. pripada porodici *Nostocaceae*, te su blisko srodne prethodno opisanom rodu *Nostoc* sp.. Karakterizira ju nitasti (filamentozni) oblik rasta (slika 12) te je sastavni dio planktona plitkih voda i vlažnog tla. Uglavnom su slatkovodne vrste te toleriraju različit pH tla, dok morske vrste mogu živjeti u različitim uvjetima slanosti. Poznate su po tvorbi specijaliziranih stanica za fiksaciju atmosferskog dušika ( $N_2$ ) – heterocista (slika 12, lijevo), po tvorbi neurotoksina (toksični sojevi) te žive endofitski s određenim papratima – *Azolla*. Najpoznatije vrste su *Anabaena aequalis*, *A. azollae*, *A. catenula*, *A. cylindrica*, *A. oscillarioides*, *A. torulosa* i dr.



Slika 12. *Anabaena azollae* i *Anabaena catenula* (heterocista-označena crvenom strelicom). Prilagođeno iz:

<http://algae.ihb.ac.cn/english/algaeDetail.aspx?id=134>

Pristup: 22.08.2022.

Simbioza vodene brzorastuće paprati *Azolla* i filamentozne cijanobakterije *Anabena* imaju ogroman potencijal u fotosintetskoj proizvodnji dušičnih gnojiva. Danas samo nekoliko zemalja koristi ovaj alternativni izvor gnojiva (Indija, Kina) čija se proizvodnja odvija u specijaliziranim ribnjacima, kanalima, potocima i spremnicima (Pereira i sur. 2018.). Ipak, u modernoj poljoprivredi u kojoj je potreban visok prinos usjeva uporaba biomase *Azolla-Anabena* gnojiva nije dovoljna međutim, budući da je potrebno koristiti manje količine sintetskih gnojiva, troškovi proizvodnje postaju niži.

Pojedine vrste roda *Anabaena* također pripadaju PGPR rizobakterijama. Uključene u biofilme korijena biljke olakšavaju kruženje hranjivih tvari te pomaže u biokontroli štetnika i bolesti čime poboljšavaju produktivnost usjeva. Osim mikrobnih biofilmova, koristi se i relativno noviji koncept kombinacije gljivičnih biofilmova. Jedna od najčešće istraživanih vrsta gljiva u smislu biofilma je *Trichoderma*. Primjer istraživanja je Prasanna i sur. (2013.) čije su analize bile usmjerene na procjenu agronomskog potencijala pripravka kombinacije cijanobakterija *A. torulosa*, *A. laxa* i gljivice *Trichoderma viride* na rizobijalni biofilm. Pokusi su se pratili u kontroliranim uvjetima, na usjevima riže i pšenice. Učinak formulacije bio je procijenjen u smislu mikrobioloških, raspoloživih hranjivih tvari i biometrijskih parametara biljaka, a rezultati su pokazali da je *Bradyrhizobium* biofilm bio puno veći, odnosno da je ukupna biljna masa u odnosu na druge mikrobnе tretmane bila veća za 20-45% (Prasanna i sur. 2013.). Ovakvih istraživanja je malo, većina pažnje trenutno je usmjerena ka molekularnim metodama i laboratorijskim ispitivanjima dok su poljska ispitivanja, formulacije i koncepti cijanobakterijskih pripravaka u manjoj pozornosti.

Nadalje, ispitivanje Wang i sur. (2022.) izvršili su jednogodišnji pokus na glogu (*Crataegi fructus*) tretiranjem pripravka *Anabaena azotica* i *Chlorella pyrenoidosa* u okrugu Wenxi i okrugu Jiangxian, smješteni u dominantnom proizvodnom području gloga u Kini. Osnova odabira *Anabaena azotica* bila je u; provođenju jake biološke fiksacije dušika, sposobnosti sintetiziranja aminokiselina i proteina, sposobnosti otapanja fiksiranog fosfora u tlu ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), aktivaciji elemenata u tragovima u tlu te poticanje apsorpcije i tvari koje stimuliraju rast (Wang i sur. 2022.). Osnova odabira *Chlorella pyrenoidosa* bila je u; provođenju fotosinteze pri slabom izvoru svjetlosti, učinak fotosinteze je 10 puta veći od biljaka, osigurava i poboljšava hranjive tvari, poboljšava iskorištavanje vode od strane biljaka, također može brzo adsorbirati ione teških metala i pospješiti izlučivanje štetnih tvari iz biljaka, nadalje, aktivira fagocite i interferone, potiče otpornost biljaka, razgrađuje ostatke pesticida i gnojiva i pretvara ih u upotrebljivo stanje koje je korisno za biljke (Wang i sur. 2022.). Rezultati su pokazali značajno poboljšanje izgleda i kvalitete plodova te smanjenje ostataka pesticida na voću u odnosu na one s upotrebom kemijskih gnojiva, povećali su sadržaj nezasićenih masnih kiselina i poboljšali sadržaj hranjivih tvari u plodovima te povećanje sadržaja organskih tvari u tlu. Wang i sur. (2022.) daljnja ispitivanja o koristi i značaju ovih dviju vrsti usmjeravaju i na druge voćke kao što su trešnje, jabuke i jagode.

Istraživanje koje su proveli Swarnalakshmi i sur. (2013.), analizirali su učinak *Anabena* inokulata na sjeme pšenice. Procjenom mikrobioloških parametara, uočili su povećanje dušične aktivnosti i količine klorofila u tlu uslijed stvaranja cijanobakterijskih biofilmova pri čemu je tretirani uzorak zabilježio povećanje dostupnog dušika od 57,42% u usporedbi s kontrolama (Swarnalakshmi i sur. 2013.).

Treba istaknuti kako je zabilježen velik broj slučajeva trovanja stoke, divljih sisavaca, pasa, ptica i čovjeka neurotoksinima toksičnih sojeva ovoga roda. Anatoksin je snažan neurotoksin alkaloid koji rezultira paralizom i brзом smrću, proizvode ga i druge cijanobakterije (*Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix* i *Oscillatoria*). Jedan od primjera je toksični soj *Anabaena flos-aquae*. Zbog plazmidne DNA netoksični sojevi mogu postati toksični tj. nosioci alkaloid neurotoksin - anatoksina i ciklički heptapeptidnog toksina – mikrocistina. Do transfera gena koji je odgovoran za toksičnost, između cijanobakterijskih sojeva, dolazi prilikom konjugacije horizontalnog prijenosa samo-prijenosnih plazmida. Također je moguća insercija jednog ili više gena iz plazmida u bakterijski kromosom i obratno.

### 3.3. Rod *Tolypothrix* sp.

*Tolypothrix* sp. se nalazi u kolonijalnim, nitastim oblicima, heteropolarnih niti čija debljina i boja (žuta, smeđa, zelena ili zeleno-plava) varira ovisno o vrsti. Stanice su cilindričnog oblika, obično plavo-zelene do maslinasto-zelene boje. Filamenti mogu biti pričvršćeni za podlogu ili plutaju (ako se bentoske kolonije odvoje od podloge) na površini vode. Karakterizira ih tzv. lažno grananje pri čemu grane započinju s rastom na interkalarnim heterocistama, odudaraju po obliku i dužini od glavne niti te se nakon određenog vremena odvajaju (Slika 13) (Singh i sur., 2016).



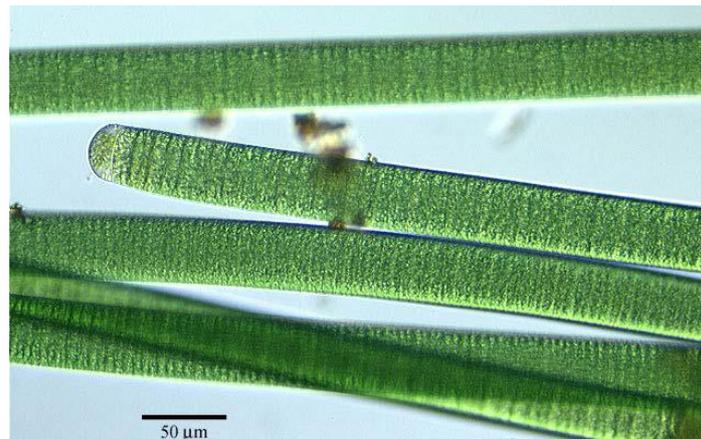
Slika 13. *T. tenuis* CCALA 197, (a i b) karakteristično granjanje, (c) terminalna stanica. Prilagođeno iz [https://www.researchgate.net/figure/Tolypothrix-True-Tolypothrix-a-c-Ttenuis-CCALA-197-characteristic-branching-for\\_fig5\\_266564002](https://www.researchgate.net/figure/Tolypothrix-True-Tolypothrix-a-c-Ttenuis-CCALA-197-characteristic-branching-for_fig5_266564002) Pristupljeno: 19.05.2022.

Istraživanje Storni de Cano i sur. (2003.) utvrdili su povećani rast biljnog tkiva i regeneracije riže (*Oryza sativa* L.) u prisutnosti *Tolypothrix tenuis*. Izvanstanične bioaktivne tvari *T. tenuis*, koje su poticale regeneraciju riže bile su; giberelin, auksin, citokinin, poliamini i dr. *T. tenuis* utjecala je i na povećanu produkciju proteina. Osim regeneracije stanica, pratio se i sadržaj klorofila a i b te karotenoida pri čemu je ukupna količina klorofila bila udvostručena, a kod sadržaja karotenoida nije bilo uočeno značajnih promjena. Unosom *T. tenuis* i *T. camptylonemoides* u tlo u obliku biognojiva, kako navode Storni de Cano i sur. (2003.), mogu rezultirati doprinosom od oko 40kg N<sub>2</sub>/ha/godišnje, a osim doprinosa dušika, dokazuju i pozitivan, indirektan utjecaj ostalih metaboličkih produkata unutar rizosfere biljke. *Tolypothrix* sp. uzgaja se kao biomasa na otvorenim, zatvorenim (bioreaktori) ili hibridnim sustavima s niskim troškovima uzgoja i žetve u svrhu dobivanja biognojiva, hrane za akvakulture i visokovrijednih bioproizvoda uključujući pigmente (fikocijanin i fikoeritrin), omega-3 i omega-6 masne kiseline. Nadalje, sojevi određenih cijanobakterija koje fiksiraju dušik (*T. tenuis*) poznati su po svojoj sposobnosti samoflokulacije koja bi potencijalno mogla smanjiti troškove odvodnjavanja u suspenzijskoj kulturi.

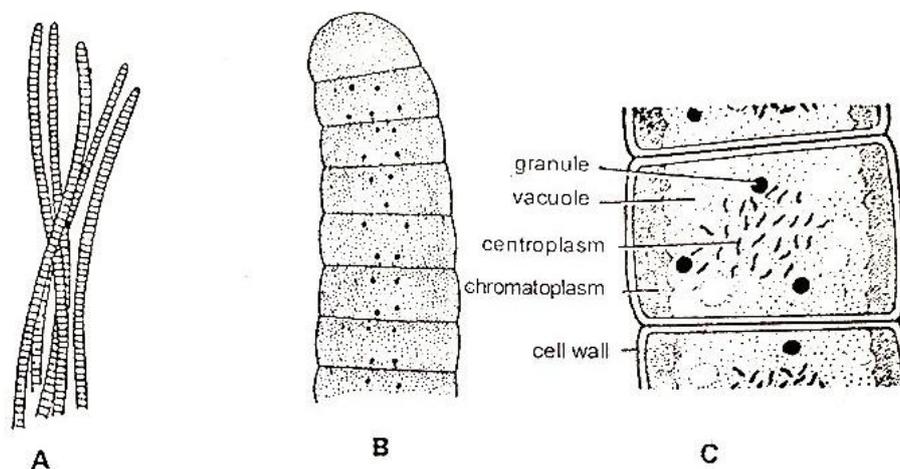
### 3.4. Rod *Oscillatoria* sp.

Stanice vrsta reda *Oscillatoriales* povezane su u niti ili trihome (gr. riječ trihos-dlaka). Kroz sitne pore prolaze plazmatske spojnice (plazmodezmije). Trihomi su često obavijeni galertom. Sastoji se od jednog reda stanica koje tvore trihome ili nerazgranate filamente (slika 14). Stanice su šire nego duže te cilindrične (slika 15). Sve su filamentne stanice slične osim vršne stanice koja je na vrhu konveksna. Ako se svježi materijal promatra pod mikroskopom, opaža se specifično oscilirajuće kretanje po kojem je i dobila naziv. Sve stanice imaju dobro razvijenu staničnu stijenku. Stanična stijenka sastoji se od unutarnjeg tankog staničnog sloja, srednjeg pektinskog sloja i vanjske sluzi. Protoplazma se sastoji od periferne i središnje citoplazme. Pigmenti se nalaze na periferiji pa je poznata kao kromoplazma. Prisutno je i nekoliko malih granula. U nekim slučajevima dodatno se nalazi pseudo-vakuola. Nekoliko kapi ulja također se mogu naći pohranjene kao rezervna hrana. Razmnožavaju se pomoću

hormogona (vegetativno), trihomi koji se raspadnu na komade stvaraju fragmente koji se diobom stanica razvijaju u nove te se heterociste i spore u mirovanju ne proizvode. *Oscillatoria* nastanjuje širok raspon okoliša od slatkovodnih do morskih, jezerima, barama, i rijekama sporog toka, rastu među algama ili na muljevitim i pjeskovitim podlogama. U visoko organskim staništima kao što su slane močvare često se mogu pronaći bezbojne vrste. Pojedine vrste tvore mikrocistine (neurotoksine) od kojih su najopasniji anatoksin i homoanatoksin (Mazmouz i sur. 2010.). Najuobičajenije vrste su: *Oscillatoria splendida*, *O. formosa*, *O. curviceps*, *O. lomosa*, *O. peinceps*, *O. nigra* i dr.



Slika 14. *Oscillatoria peinceps*. Izvor: Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno- matematički fakultet, Biološki odsjek.



Slika 15. A-prikaz karakteristične nitaste strukture, B-pojedinačna povećana nit, C- jedna stanica. Izvor: <https://botnam.com/oscillatoria/> Pristup: 23.08.2022.

U današnje vrijeme, cijanobakterije su jedan od važnih bioloških kontrolnih alata za suzbijanje biljno-parazitskih nematoda. Zabilježeno je da cijanobakterije proizvode mnoge metabolite, koji su identificirani kao toksini, antibiotici i inhibitori proteaze. Primjerice, ekstrakt *Oscillatoria redekei* posjeduje nematocidno djelovanje na nematode *Meloidogyne incognita*, *Haemonchus contortus* i *Caenorhabditis elegans* kod uzgoja soje (Ghareeb i sur. 2022.). U navedenim pokusima uočena su i poboljšana biološka i fiziološka svojstva tretiranih

biljaka soje. Stoga posljedično, tretirane biljke mogu pokazivati brži rast te visok sadržaj klorofila.

U istraživanju Uddin i sur. (2019.) proučavalo se poticanje rasta i učinak *Oscillatoria* i *Spirulina* kao bio-gnojiva na proizvodnju bamije čiji se eksperiment proveo na farmi poljoprivrednog sveučilišta Sher-e-Bangla u Bangladešu. Istraživanje navodi da je pojedinačna primjena učinkovita te da je povećala produktivnost rasta biljke, međutim kombinacija primjene *Oscillatoria* i *Spirulina* dala je veći prinos od pojedinačne primjene.

## 4. CIJANOBAKTERIJE U ZAŠTITI OKOLIŠA

Kao što je već spomenuto, cijanobakterije imaju važnu ulogu i veliki potencijal u uklanjanju štetnih tvari iz okoliša te u smanjenju onečišćenja tla, vode i zraka. Tlo zagađeno teškim metalima, pesticidima, soli itd., može se tretirati cijanobakterijskom razgradnjom (Malyan i sur. 2020.). Brza stopa razmnožavanja i visoka površinska asimilacija cijanobakterija ima značajnu ulogu u pročišćavanju otpadnih industrijskih voda. Kod uklanjanja štetnih tvari i smanjenja onečišćenja iz atmosfere, cijanobakterije imaju dvostruku ulogu, sekvestraciju CO<sub>2</sub> i smanjenje emisije CH<sub>4</sub> kod uzgoja riže. Biološka sekvestracija atmosferskog CO<sub>2</sub> putem cijanobakterija ekološki je prihvatljiv pristup i razmjerno je viši od zelenih algi (Sanchez Fernandez i sur. 2012.). Visoka stopa rasta posljedica je brze fotosinteze kod cijanobakterija pa stoga cijanobakterije imaju brz potencijal biološke fiksacije CO<sub>2</sub>. Cijanobakterije mogu igrati istaknutu ulogu u dekontaminaciji uljnih tvari iz otpadnih voda i pomoći u razgradnji složenih ugljikovodika (Zahra i sur. 2020.). Primjeri korisnih cijanobakterija vidljivi su u tablici 2.

Tablica 2. Popis cijanobakterijskih vrsta s potencijalom za bioremedijaciju brojnih kontaminanata. Izvor: Zahra i sur. 2020..

Potencijalni bioremedijator	Zagađivač
<b>Cijanobakterija</b>	<b>Otpadne vode, uljani sastavi, organski kompleksi, herbicidi..</b>
<i>Anabaena</i> sp., <i>Nostoc</i> sp., <i>Lyngya</i> sp., <i>Spirulina</i> sp., <i>Microcystis</i> sp.	Pomažu u uklanjanju onečišćenja herbicida glifosata s poljoprivrednih površina
<i>Arthrospira</i> ( <i>Arthrospira maxima</i> CS-328, <i>Arthrospira</i> sp. PCC8005, <i>A. platensis</i> NIES-39, <i>A. platensis</i> Paraca P0)	Tolerancija na različite uvjete okoline kao što su visoka temperatura, alkalnost, i zaslanjenost
<i>Oscillatoria boryana</i> BDU 92181	Uklanjanje melanoidina iz otpadnih voda
<b>Cijanobakterijski konzorcij s kemotrofnim bakterijama</b>	
<i>Synechococcus elongatus</i> , <i>Anacystis nidulans</i> i <i>Microcystis aeruginosa</i>	Uklanjanja zagađivače insekticida, tj. klora i fosfora
<i>Microcoleus chthonoplastes</i> s organotrofnim bakterijama	Fiksacija dušika i razgradnja alifatskih heterocikličkih sumpornih spojeva i ugljikovodika, tj. alkiliranih monocikličkih i policikličkih aromatskih spojeva
<i>Anabaena oryzae</i> s <i>Chlorella kessleri</i>	Biorazgradnja sirove nafte
<i>Aphanocapsa</i> sp. BDU 16, <i>Oscillatoria</i> sp. BDU 30501 s <i>Halobacterium</i> US 101	Pročišćavanje otpadnih voda, smanjuje sadržaj kalcija i klorida u vodenim sustavima za preživljavanje riba

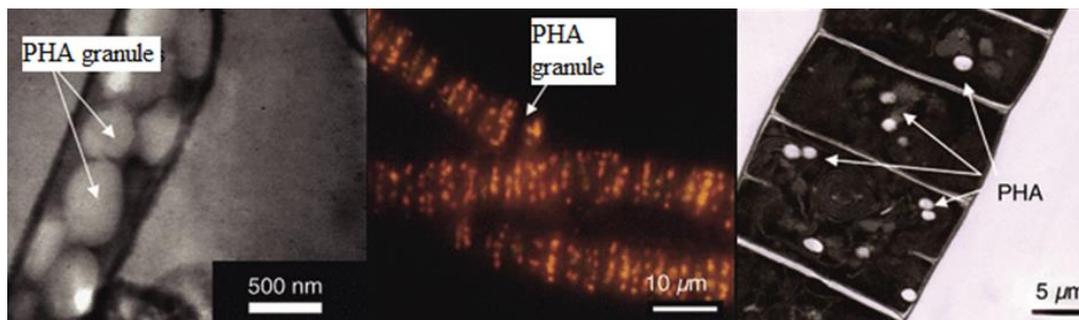
Pojedine vrste mogu se koristiti i u razgradnji boje za tekstil koje mogu biti teški kontaminant te ih je teško razgraditi biološkim putem. Zahra i sur. 2020. ističu niz cijanobakterijskih vrsti (*Anabaena flosaquae* UTCC64, *Phormidium autumnale* UTEX1580,

*Gloeocapsa pleurocapsoides*, *Phormidium ceylanicum* i *Synechococcus* sp.) čije su sposobnosti procijenjene za sposobnost pročišćavanja otpadne vode iz tekstilnih industrija. Nedavne studije pokazale su da su mjesta zagađena naftom bogata konzorcijima cijanobakterija sposobnih razgraditi komponente nafte. Cijanobakterije unutar ovih konzorcija olakšale su procese razgradnje opskrbljujući povezane bakterije koje razgrađuju ulje potrebnim kisikom, organskim tvarima i vezanim dušikom. Mnoga istraživanja su izvijestila o sposobnosti cijanobakterija da oksidiraju komponente ulja i druge složene organske spojeve kao što su surfaktanti i herbicidi (Abed i sur. 2009). Prisutnost cijanobakterija uz aerobne organotrofe olakšala je proces razgradnje te su obje skupine činile idealne konzorcije za razgradnju nafte i drugih složenih organskih spojeva. Dok aerobne bakterije izravno razgrađuju te komponente, cijanobakterije igraju jednako važnu neizravnu ulogu u biorazgradnji tako što im (1) osiguravaju kisik (nusprodukt fotosinteze) koji je potreban za razgradnju aromatskih prstenova, (2) osiguravaju im jednostavne organske tvari ( proizvedene fotosintezom i fermentacijom) i (3) opskrbljavaju fiksiranim dušikom (putem sojeva koji fiksiraju dušik), koji je često ograničen u različitim okruženjima (Abed i sur. 2009).

Također je utvrđeno da pojedine cijanobakterije akumuliraju (unutarstanično) polihidroksialkanoate (PHA), koji su po svojstvima zamjenjivi s polietilenom i polipropilenom koji su štetni za okoliš, odnosno, biorazgradiva plastika bi mogla u skoroj budućnosti gotovo upotpunosti zamijeniti termoplastiku dobivenu iz petrokemije (Abed i sur. (2009). U uvjetima viška esencijalnih hranjivih sastojaka, mnogi mikroorganizmi obično asimiliraju i pohranjuju hranjive sastojke za buduću potrošnju. U cijanobakterijama su identificirane različite tvorevine za skladištenje tvari kao što su glikopen, sumpor, poliamino kiseline, polifosfat, lipidi i PHA (Tablica 3). PHA predstavlja lipoidni materijal koji je alternativni izvor ugljika te se nakuplja u obliku kristalnih (netopivih u vodi) granula u staničnoj citoplazmi (slika 16). PHA je u središtu istraživanja zadnja četiri desetljeća jer se može u potpunosti mineralizirati na vodu i CO<sub>2</sub> od strane mikroorganizama te predstavlja alternativnu zamjenu za nebiorazgradivu plastiku na bazi petrokemije (Abed i sur. (2009). Uz navedeno, proizvodnja je lako dostupna i koristi besplatan izvor ugljika i energije iz sunčeve svjetlosti.

Tablica 3. Cijanobakterije koje proizvode određene vrste PHA s odabranim izvorima ugljika. Prilagođeno iz Abed i sur. (2009).

VRSTE CIJANOBAKTERIJA	VRSTE PHA	TESTIRANI IZVORI UGLJIKA	REFERENCE
<i>Nostoc muscorum</i>	P(3HB)	Acetat / glukoza	Sharma i sur. (2007.)
<i>Chlorogloea fritschii</i>	P(3HB)	CO <sub>2</sub> / acetat	Jensen and Sicko (1971.)
<i>Oscillatoria limosa</i>	P(3HV)	CO <sub>2</sub> / acetat	Stal (1992.)
<i>Synechococcus MA19</i>	P(3HB)	CO <sub>2</sub>	Miyake et al. (1997.)
<i>Gloeotheca</i> sp.	P(3HB)	CO <sub>2</sub> / acetat	Stal (1992.)
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	P(3HB)	Fruktoza / acetat	Panda i Mallick (2007.)
<i>Spirulina maxima</i>	P(3HB)	CO <sub>2</sub>	De Philippis i sur. (1992.)
<i>Arthrospira platensis</i>	P(3HB)	CO <sub>2</sub>	Campbell i sur. (1982.)



Slika 16. (1) Prijenosna elektronska mikrografija (TEM), granula PHA u cijanobakterijskoj stanici, (2) PHA zrnca nakupljena u *Arthrospira platensis*, (3) Transmisijska elektronska mikrografija koja prikazuje PHA granule nakupljene u citoplazmi *A. platensis*. Prilagođeno iz Abed i sur. (2009).

Visoke razine CO<sub>2</sub> i antropogenizacija koje su povezane s klimatskom nestabilnošću, nedostatkom slatke vode i smanjenom obradivom površinom zemljišta negativno utječu i na cijanobakterijski genom kao adaptacija na nepovoljne i stresne uvjete okoline. Kao rezultat adaptacije dolazi do produkcije toksina koji predstavljaju prijetnju u održavanju sigurne, pitke vode i proizvodnji sigurne hrane. Uvjeti okoliša poput visokog pH, svjetla, temperature i hranjivih tvari pogoduju rastu cijanobakterija te rezultira cvjetanjem algi (eutrofikacija) vodenih ekosustava što predstavlja opasnost po ljudsko zdravlje i okoliš (Zahra i sur. 2020.). Cvjetanje cijanobakterija može biti otrovno ili neotrovno. Načini na koje ljudi mogu biti izloženi cijanobakterijskim cijanotoksinima je konzumiranje kontaminirane hrane i vode. Cijanotoksine mogu proizvoditi različiti rodovi cijanobakterija. Na primjer, mikrocistin je najpoznatiji cijanotoksin koji može proizvesti više rodova kao što su *Anabaena*, *Microcystis*, *Nostoc* i *Planktothrix* (Zahra i sur. 2020.). Većina zdravstvenih problema koji su prijavljeni bili su uglavnom u zemljama u razvoju gdje se voda skuplja i skladišti u spremnicima. Nažalost, proizvodnja cijanotoksina iz određenih vrsta cijanobakterija samo je jedan primjer ograničenja, stoga pristup upravljanju ovim organizmima ipak treba biti oprezan, pomno praćen i usklađen svim standardima.

#### 4.1. Rod *Oscillatoria* sp.

*Oscillatoria* sp. prethodno je opisana u cjelini 3.4. stoga ovo poglavlje navodi primjenu ovih cijanobakterijskih vrsta vezanu za tematiku zaštite okoliša i smanjenje kontaminacije istim.

Mikrobna desalinizacija je zelena tehnologija koja bi mogla omogućiti novi pristup uklanjanja minerala iz vode zajedno s proizvodnjom električne energije i pročišćavanjem otpadnih voda (Bejjanki i sur. 2020.). Morska voda ili slana podzemna voda potencijalni su izvori koje treba transformirati u slatke vode procesima desalinizacije. Nekoliko metoda uključujući: reverznu osmozu, nanofiltraciju, višestruku destilaciju i elektrodijalizu itd., koriste se za transformaciju slane u slatku vodu. Međutim troškovi ovih tehnologija su prilično skupi (velika potrošnja energije, skupocjene membrane) ili imaju štetan utjecaj na okoliš (ispuštanje koncentrirane slane vode iz postrojenja, ispuštanje štetnih plinova). Kao

alternativa ovim tehnikama pojavljuje se bioelektrokemijski sustav koji koristi egzoelektrogene bakterije (npr. *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis* itd.) za razgradnju organske tvari za proizvodnju električne energije i drugih proizvoda s dodatnom vrijednošću iz otpadnih voda (Bejjanki i sur. 2020.). Mikrobná desalinizacija dio je bioelektrokemijskog sustava koja se sastoji od tri komore, anode, katode i komore za desalinizaciju. U anodnoj komori mikroorganizam iskorištava organsku tvar u anaerobnim uvjetima i otpušta elektrone, protone i ugljikov dioksid. Elektroni se prenose kroz vanjski krug na stranu katode. U srednjoj komori slana se voda desalinizira kroz anionske i kationske membrane zbog razlike u naponu, koncentracije iona i migracije između anodnih i katodnih komora tijekom proizvodnje električne energije. Istraživanje Bejjanki i sur. (2020.) upućuju na mogućnost korištenja *Oscillatoria* sp. kao biokatalizatora u katodnoj komori u tu svrhu.

Nadalje, Azarpira i sur. (2014.) utvrdili su učinkovitost *Oscillatoria limosa* i *Nostoc commune* u uklanjanju štetnih tvari kako bi se spriječilo daljnje pogoršanje kvalitete vode. Rezultati su pokazali učinkovito smanjenje  $\text{NO}_3^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-2}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$  i  $\text{Cl}^-$  od 98 i 84%.

Prisutnost teških metala u okolišu predstavlja veliki problem zbog njihove toksičnosti za floru i faunu. Teški metali nisu biorazgradivi i imaju tendenciju nakupljanja u živim organizmima. Obzirom na cijanobakterijski potencijal, ideja primjene mikroalgi i cijanobakterija u bioakumulaciji prvi put predložena je 1957. godine, dok je svoju pozornost počela privlačiti tek nedavno. Priyadarshani i sur. (2012.) istaknuli su povelik broj cijanobakterijskih vrsti koje se koriste za bioremedijaciju teških metala. Među njima su istaknute *Oscillatoria* sp. u bioremedijaciji nikla (Ni), kroma (Cr), zatim *Oscillatoria quadripunctata* u bioremedijaciji bakra (Cu), kobalta (Co), olova (Pb) i cinka (Zn), te *Oscillatoria jasarvensis* u bioremedijaciji kadmija (Cd), olova (Pb) i žive (Hg) (Priyadarshani i sur. 2012.).

## 4.2. Rod *Phormidium* sp.

Rod *Phormidium* sp. pripada porodici *Oscillatoriaceae*. Filogenetski je ne koherentna stoga je ovaj rod prošao kroz znatnu reorganizaciju, uključujući reklasifikacije nekih vrsta u razne druge rodove, a postoje i taksonomska pitanja na koja tek treba odgovoriti (Loza i sur. 2013.). Trihomi su cilindrični, ponekad vrlo blizu krajeva suženi. Stanice izrazito kraće nego široke dok su krajnje stanice zaobljene do zašiljene. Trihomu nedostaju heterociste, ima omotač koji se proteže preko kraja trihoma. Filamenti formiraju kolonije na različitim vodenim podlogama (uglavnom slatkovodnim, rijetko u morskom priobalju), i na vlažnom tlu. Neke vrste su ekstremofili u toplim izvorima ili pustinjskom pijesku i tlu. Stvaraju anatoksina.



Slika 17. *Phormidium* sp. Izvor: Izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek.

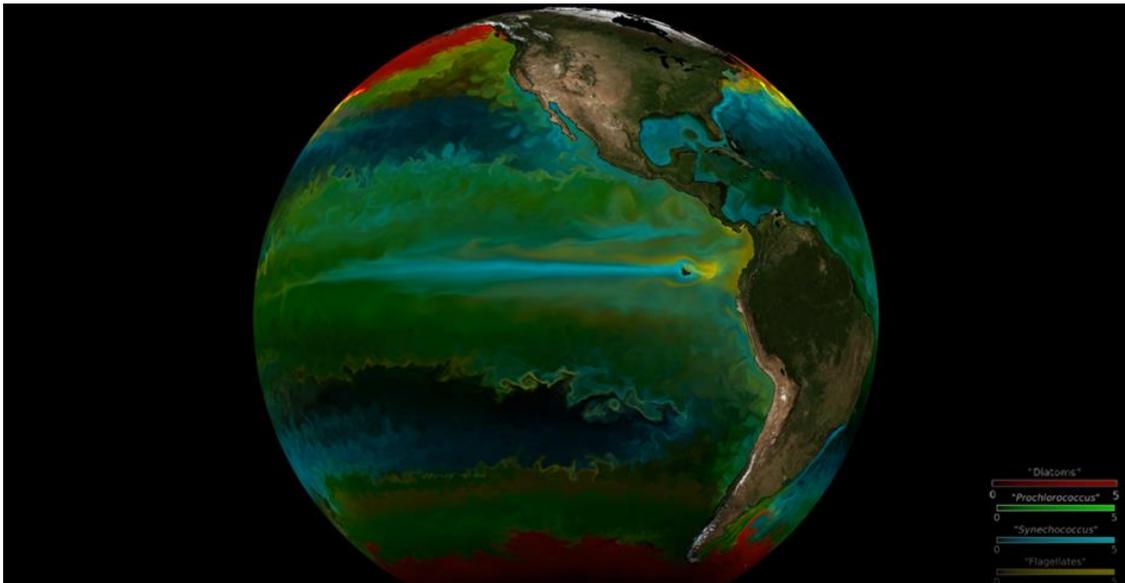
Istraživanje Nagasathya i Thajuddina (2008.) sugerira na sposobnost smanjena zagađivača hiperslane cijanobakterije *Phormidium tenue* u otpadnim vodama tvornica papira. Rezultati ispitivanja su bili vidljivi nakon 20 dana pri čemu je primijećena smanjena razina klorida, saliniteta, alkaliteta, kalcija, magnezija, nitrita, nitrata, anorganskog fosfata, KPK, BPK, sulfata te rastuće razine pH i otopljenog kisika (Nagasathya i Thajuddina, 2008.). Osim navedenog zabilježeno je značajno smanjenje kemijskih boja u omjerima 60 - 90 %.

O potencijalu desalinizacije pri različitim razinama saliniteta vrste *Phormidium keutzingianum* proučavano je u istraživanju Zafar i sur. (2022.). Široki raspon saliniteta od bočate do hiperslane vode istražen je u ovom radu kako bi se osigurala prilagodljivost *P. keutzingianum* u uvjetima ekstremnog stresa. Procjena rasta biomase pokazala je proizvodnju biomase, biosorpciju, bioakumulaciju i biomineralizaciju u svim salinitetima što potvrđuje njen potencijal desalinizacije (Zafar i sur. 2022.).

Nadalje, fluorid je globalni zagađivač vode geogene prirode koji utječe na ljudsko zdravlje. Primarni kriterij za primjenjivost bilo kojeg prikladnog (bio) adsorbensa za uklanjanje fluorida uključuje (bio)sorpcijski kapacitet, operativna jednostavnost, mogućnost ponovne upotrebe i izvedivost regeneracije (Mittal i sur. 2020.). Inkapsulacija *Phormidium* sp. kao bioapsorbenta u istraživanju Mittal i sur. (2020.) pokazao se učinkovit za uklanjanje fluorida u teoriji, no upućuju na daljnja istraživanja utvrđivanja njegove stvarne učinkovitosti.

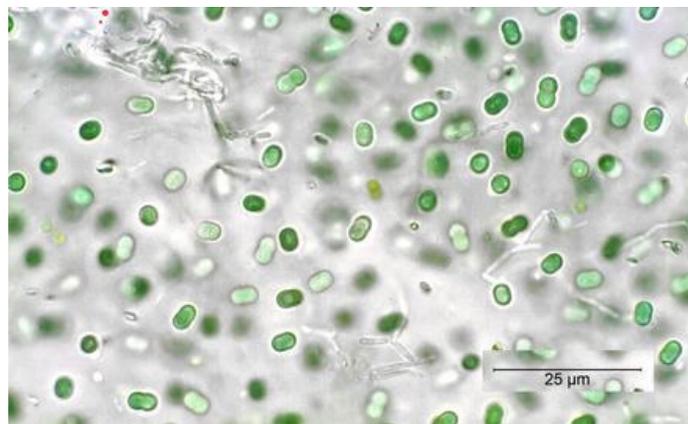
### 4.3. Rod *Synechococcus* sp.

*Synechococcus* sp. pripada porodici *Synechococcaceae*, jednostanična cijanobakterija kokoidnog do štapićastog oblika. Među najzastupljenijim autotrofnim prokariotima su koji žive u oceanima i jezerima i zauzimaju važnu poziciju u tim ekosustavima. Zajedno s *Prochlorococcus* sp. odgovoran je za otprilike 25% oceanske neto primarne proizvodnje (Slika 18).



Slika 18. Raspodjela fitoplanktona (*Synechococcus* plavo) u svjetskim oceanima. Prilagođeno iz <https://svs.gsfc.nasa.gov/30669> Pristupljeno 21.05.2021.

*Synechococcus* sp. su oksigeni fotoautotrofi koji koriste  $H_2O$  ili  $H_2S$  kao donore elektrona. Sferičnog su ili elipsoidnog oblika, za rast preferiraju blago alkalni pH, te su pokretni (slika 19). Stanica se kreće na način da površina stanice radi oscilirajuće potiske koji joj omogućavaju kretanje. Stanične stijenke gram-negativnog tipa, opremljene su debelim slojem peptidoglikana (Callieri 2017.). *Synechococcus* može formirati vanjski S-sloj glikoproteina važnih za staničnu adheziju i zaštitu, koji djeluje kao molekularno sito. Glavni fotosintetski pigment u *Synechococcus* sp. je klorofil a, dok su njegovi glavni pomoćni pigmenti fikobiliproteini. Četiri općepriznata fikobilina su fikocijanin, alofikocijanin, alofikocijanin B i fikoeritrin. Evolucija njegovih fikobilisoma ključ je života na različitim dubinama u oceanima i jezerima, također zahvaljujući snažnoj prilagodljivosti različitim toplinskim uvjetima (Callieri 2017.). Uz fleksibilnost koju dopuštaju ove fiziološke prilagodbe, uspjeh populacija *Synechococcus* sp. poboljšan je njihovom sposobnošću da formiraju mikrokolonije (5 do 50 stanica), čime izbjegavaju stresne uvjete izloženosti UV zračenju i pritisku predatora (Callieri 2017.).

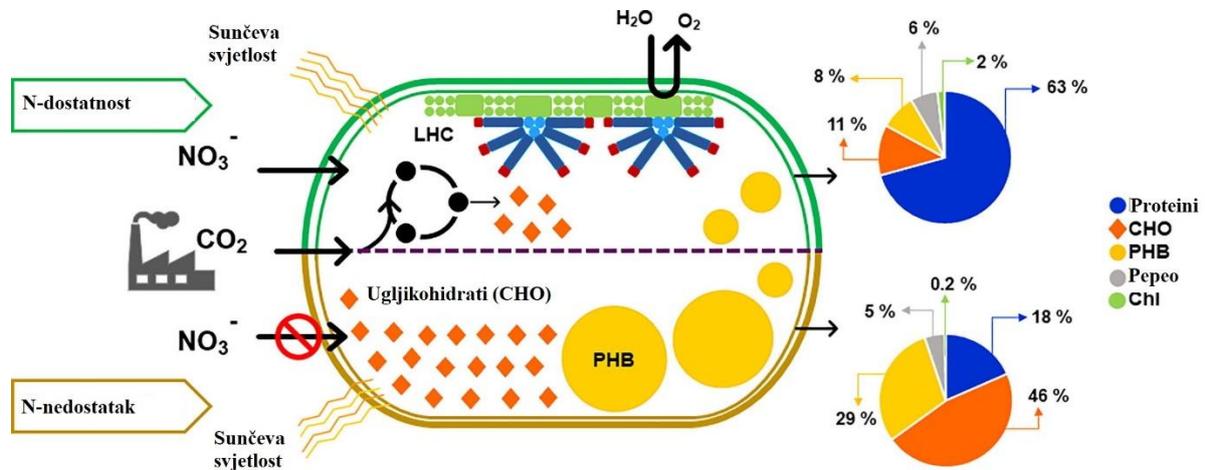


Slika 19. *Synechococcus elongatus*. Izvor:

[https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=F31a3b2018e49343b](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=F31a3b2018e49343b) .Pristup: 27.08.2022.

Obzirom da cijanobakterije, posebno morski sojevi koji se mogu uzgajati u morskoj vodi koja nije pogodna za poljoprivrednu uporabu ili izravnu prehranu ljudi, mogu pružiti potpuno održivo rješenje. Sposobni su pretvoriti CO<sub>2</sub> i anorganske izvore dušika, fosfora i mikroelemenata u biomasu. Od *Synechococcus* vrsti koje su osnova današnjih istraživanja u svrhu proizvodnje bioplastike i biogoriva su morski soj *Synechococcus* sp. PCC 7002 i *Synechococcus* sp. PCC 11901 te od slatkovodnih sojeva *Synechococcus elongatus* PCC 7942 i *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 (Włodarczyk i sur., 2020). Istraživanje Włodarczyk i sur. (2020) utvrdili su brzi rast, veliko nakupljanje biomase i otpornost na različite abiotičke stresove soja *Synechococcus* sp. PCC 11901. Također je utvrđeno da enzimi ove cijanobakterijske biomase sadrže visoke razine skladišnih ugljikohidrata poput glikogena, koji se mogu koristiti kao sirovina za fermentaciju kvasca i proizvodnju bioetanolu (detaljnije u poglavlju 6.2.).

Proizvodnja poli(3-hidroksibutirata) (PHB) od strane divljeg tipa soja *Synechococcus elongatus* UAM–C/S03 procijenjena je u istraživanju González-Resendiz i sur. (2021.). U ovom radu praćena je proizvodnja PHB-a pri različitim uvjetima pH, akumulacije CO<sub>2</sub> i hranjiva dušikom. Najveća produktivnost biomase bila je u okruženju bez dušika, istovremeno stvarajući visok sadržaj ugljikohidrata (shematski prikaz slika 20.). Ovaj obećavajući organizam može biti ključan u pretvaranju CO<sub>2</sub> u biopolimere i/ili da se koristi kao sirovina za biogorivo. Osim toga, González-Resendiz i sur. (2021.) utvrdili su učinkovitu akumulaciju CO<sub>2</sub> te toleranciju ovog soja na širok raspon pH.



Slika 20. Shematski prikaz staničnih produkata *Synechococcus elongatus* (soj UAM–C/S03) pri različitim uvjetima. Prilagođeno iz: González-Resendiz i sur. (2021.).

Nadalje, ispitivanje Alsamhary (2020.) utvrđuje halotolerantnost *Synechococcus elongatus* (soj PCC 7942) koji posjeduje učinkovit mehanizam osmotske ravnoteže. Zanimljivo za izdvojiti je to što je rast *S. elongatus* (soj PCC 7942) bio značajno stimuliran pri 400mg/L NaCl-a, te da je bio tolerantan pri letalnoj koncentraciji od 800mg/L NaCl-a.

## 5. CIJANOBAKTERIJE U PROIZVODNJI HRANE

Cijanobakterije su dio ljudske prehrane tisućama godina zbog njihove bogate nutritivne vrijednosti. Ljudi su stoljećima konzumirali određene vrste kao što su: *Arthrospira platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Oscillatoria funiformis*, *Limnospira maxima* i *Nostoc sphaeroides* (Mutoti i sur. 2022.). Cijanobakterije se sve više koriste za proizvodnju hrane i prehrane u važnim industrijskim okruženjima. Suočeni s rastom ljudske populacije i popratnim pritiskom na korištenje prirodnih resursa, cijanobakterije su obećavajući kandidati za tu primjenu zbog svoje sposobnosti rasta bez korištenja obradivih površina i bez stvaranja industrijskih otpadnih proizvoda (Liu i sur. 2021.). Danas se komercijalni sojevi cijanobakterija koriste za povećanje nutritivnih vrijednosti ljudske hrane. Na tržištu su cijanobakterije dostupne u obliku kapsula, tekućih napitaka i tableta (slika 21). Cijanobakterije su bogat izvor vitamina te ih većina sadrži oko 30%–50% proteina u suhoj biomasi (Malyan i sur. 2020). Na primjer, *Arthrospira* doseže 50-70% proteina, proizvodi masne nezasićene kiseline (1,5-2%), lipide (5-6%), kao i razne vitamine (više u poglavlju 5.1.).



Slika 21. Spirulina u prahu.

Izvor: <https://www.biobio.hr/spirulina-u-prahu-proizvod-23208/> Pristupljeno: 19.05.2022.

Mnoge karakteristike čine cijanobakteriju privlačnom alternativom za održivu proizvodnju hrane: visok sadržaj hranjivih tvari, potreba za manjim količinama zemljišta (neplodna ili neprikladna zemlja), potrebna samo mala količina vode za rast (može biti i slana voda), stabilna proizvodnja unutar širokog raspona temperature i pH, lako probavljiva te svjetski distributivna (Panjiar i sur. 2017.). Iako su obećavajući izvor koji nudi raznoliku ponudu funkcionalne hrane, još su nedovoljno istraženi kao prirodni resurs. Komercijalno iskorištavanje cijanobakterija još uvijek je otežano nedostatkom poznavanja tehnika kulture, isplativih proizvodnih metoda te biokemijskih putova koji vode do stvaranja različitih metabolita i toksina (Panjiar i sur. 2017.). Naposljetku, posebnu pozornost treba posvetiti kontroli kvalitete sirovina i proizvoda koji se stavljaju na tržište, budući da nekoliko čimbenika može duboko utjecati na njihovu kvalitetu, a time i njihovu primjerenu upotrebu.

Međutim, poboljšanje sojeva putem genetskih modifikacija mogli bi se, u skoroj budućnosti, koristiti kao zdravstveno sigurna, funkcionalna hrana.

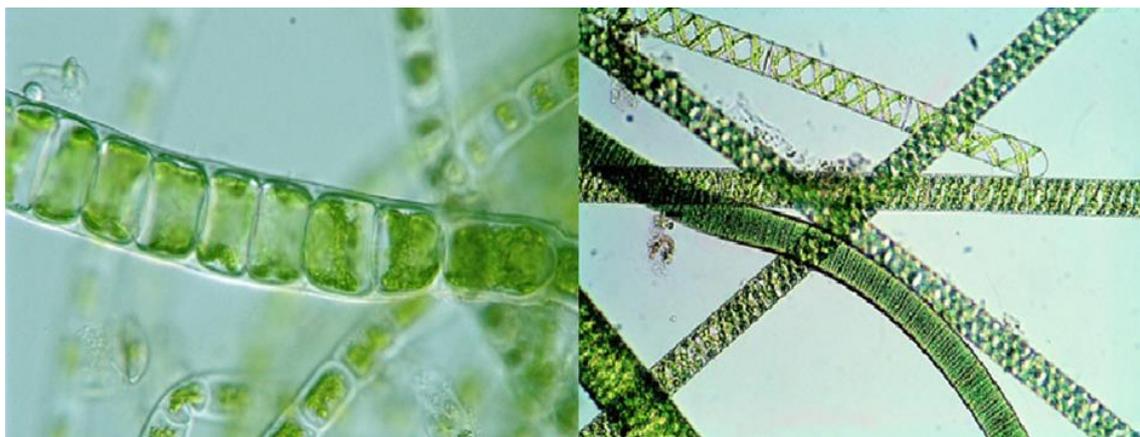
## 5.1. Rod *Arthrospira* sp.

*Arthrospira* je sveprisutni organizam. Može se prilagoditi različitim staništima i kolonizirati određena okruženja gdje često postaju dominantne vrste. Fotoautotrofna je, višestanična i nitasta cijanobakterija koja pripada porodici *Oscillatoriaceae*. Rod karakterizira spiralni trihom, a morfološke značajke poput stupnja spiralizacije i rasporeda spirala su glavni taksonomski kriteriji za raspoznavanje vrsta.

*Arthrospira* (poznata pod nazivom i Spirulina) sadrži bioaktivne polisaharide,  $\beta$ -karoten i  $\gamma$ -linolensku kiselinu. Sadrži veliku količinu proteina (sadrži sve esencijalne aminokiseline), vitamina (B kompleks) i minerala (magnezij, željezo, kalij, antioksidansi i dr.) te fiziološki pozitivno utječe na čovjeka stoga se smatra idealnom hranom i dodatkom prehrani 21. stoljeća od strane Ujedinjenih naroda (UN) i Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) (Wang i Zhao, 2005). Spirulina ima dugu povijest kao dodatak prehrani, te su prepoznati antivirusni, antibakterijski, antioksidativni, antikancerogeni, protuupalni i antidijabetički učinci. Osim navedenog, tijekom rasta i razvoja u alkalnoj ili slanoj vodi, pretvaraju ugljični dioksid u organske tvari i proizvode kisik ne trošeći pritom svježu vodu.

Dvije vrste *Arthrospira* (nekada rod *Spirulina*), *A. platensis* i *A. maxima* predstavljaju najčešće korištene cijanobakterije u gospodarstvu koje se koriste za masovnu proizvodnju. Ove i druge vrste *Arthrospira* koje tvore spiralne trihome nekad su bile svrstane u jedan rod *Spirulina* stoga je nazivlje „Spirulina“ ostala uobičajena i danas iako se ova dva roda razlikuju u slijedu gena 16S ribosomske RNA i unutarnjeg transkribiranog odstoynika (ITS) (Jung i sur., 2019). Obje su korištene kao hrana, dodatak prehrani i dodatak hrani.

*Arthrospira platensis* je višestanična plavozelena cijanobakterija (duljine: 50-500  $\mu\text{m}$ , širine: 3-4  $\mu\text{m}$ ). Karakterizira ju cilindrični, višestanični trihomi u otvorenoj lijevoj zavojnici (Slika 22). Bogata je esencijalnim aminokiselinama, vitaminima B1 (tiamin), B2 (ribovinin), B3 (nikotinamid), B6 (piridoksin), B9 (folna kiselina), B12 (cijanokobalamin), C, D i vitaminom E. Od minerala sadrži kalij, kalcij, krom, bakar, magnezij, željezo, mangan, natrij, cink, selen i fosfor. Sadrži i brojne pigmente koji uključuju; klorofil a,  $\beta$ -karoten, ksantofil, ehinenon, kantaksantin, diatoksantin, miksoksanofil, zeaksantin, 3-hidroksiehininon, oscilaksantin,  $\beta$ -kriptoksantin, te fikobiliproteine; alofikocijanin i c-fikocijanin (Jung i sur., 2019). Prirodno stanište *Arthrospira platensis* je Tihi ocean u blizini Japana i Havaja, slatkovodna jezera u Africi, jezero Klamath u Sjevernoj Americi, jezero Texcoco u Mexiku i jezero Titikaka u Južnoj Americi (Jung i sur., 2019). U mnogim afričkim zemljama sakuplja se iz prirodne vode, suši i jede kao glavni izvor bjelančevina, u mnogim zemljama Azije koristi se kao dodatak bjelančevina i kao zdrava hrana, koristi se kao prihrana za ribe, škampa i peradi, a sve više i kao dodatak bjelančevina i vitamina u akvakulturi.



Slika 22. *A. platensis* sa cilindričnim filamentima zvani trihomi. Izvor: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Arthrospira\\_platensis](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Arthrospira_platensis) Pristup: 21.05.2021.

Danas se spirulina (*Arthrospira platensis*) proizvodi u najmanje 22 zemlje: Brazil, Faso, Čad, Čile, Kina, Kostarika, Sjedinjene Američke Države, Kuba, Francuska, Ekvador, Indija, Meksiko, Madagaskar, Mjanmar, Izrael, Španjolska, Peru, Taiwan, Tajland, Vijetnam i dr. Jedan od problema u proizvodnji spiruline je trajna mutacija, degeneracija germplazme (linearizacija) koja rezultira proizvodnjom toksina i abnormalnim morfološkim oblicima koje kao takve prestaju biti uporabljive zbog visoke nasljedne stabilnosti (Wang i Zhao, 2005). U svrhu sprečavanja mutacija, nastanka otrovnih komponenti ili teških metala, proizvodnja treba biti u kontroliranim uvjetima. Opći sastav spiruline varira ovisno o mjestu i vrsti proizvodnje, ali je približno ovakav prikazan u tablici 4. Mnoga istraživanja na spirulini i njenom učinku na zdravlje ljudi upućuju na antivirusno, antibakterijsko, antioksidativno, antikancerogeno, antidijabetičko i detoksikacijsko djelovanje. Također se koristi kao prihrana u proizvodnji peradi, svinja, goveda i u akvakulturi (Jung i sur., 2019).

Tablica 4. Prosječni udio vitamina i minerala u 10g spiruline. Prilagođeno iz Jung i sur. (2019).

VITAMINI	UDIO U 10G SPIRULINE	MINERALI	UDIO U 10G SPIRULINE
Vitamin A	23000 IU	Kalcij	70 mg
B-Karoten	14 mg	Željezo	15 mg
Vitamin C	0,8 mg	Fosfor	60 mg
Vitamin D	1200 IU	Jod	55 $\mu$ g
Vitamin E	1,0 mg	Magnezij	40 mg
Vitamin K	200 $\mu$ g	Cink	0,3 mg
Biotin	0,5 $\mu$ g	Selen	10 $\mu$ g
Inositol	6,4 mg	Bakar	120 $\mu$ g
Vitamin B1	0,35 mg	Mangan	0,5 mg
Vitamin B2	0,40 mg	Krom	25 $\mu$ g
Vitamin B3	1,4 mg	Molidben	-
Vitamin B6	60 $\mu$ g	Natrij	90 mg
Folna kiselina	1,0 $\mu$ g	Kalij	140 mg
Vitamin B12	20,0 $\mu$ g	Germanij	60 $\mu$ g
Pantontenska kiselina	10,0 $\mu$ g	Bor	-

## 5.2. Rod *Spirulina* sp.

*Spirulina* sp. pripada porodici *Oscillatoriaceae*, red *Nostocales*. Nitasti je višestanični autotrof prepoznatljiv po rasporedu višestaničnih cilindričnih trihoma u otvorenu lijevu spiralu po cijeloj dužini. Neheterocistozni filamenti su plavo-zelene boje, sastavljeni od vegetativnih stanica, pokazuju lako vidljive poprečne stijenke (slika 23). Glavni fotosintetski pigment je fikocijanin, koji je plave boje. Također sadrži klorofil a i karotenoide. Neki sadrže pigment fikoitrin, koji daje crvenu ili ružičastu boju (Vo i sur. 2015.). Posjeduju plinske vakuole u stanicama, zajedno sa spiralnim oblikom filamenata, čime daje izgled plutajućih navlaka (Vo i sur. 2015.). Trihomi imaju duljinu od 50-500 mm i širinu od 3-4 mm. Trihomi su obavijeni tankim omotačem. Spiralni oblik trihoma smatra se stabilnim i konstantnim svojstvom međutim, može postojati značajna varijacija u stupnju heliciteta između različitih sojeva iste vrste i unutar istog soja (Vo i sur. 2015.). Nastanjuje jezera, močvare, slatke, bočate vode, morsku vodu i termalne izvore. Alkalna, slana voda s visokim pH (8,5-11,0) pogoduje dobroj proizvodnji spiruline, posebno tamo gdje je visoka razina sunčevog zračenja na nadmorskoj visini i u tropima. Glavni asimilacijski produkt fotosinteze *Spirulina* sp. je glikogen.



Slika 23. Prikaz *Spirulina maxima*. Izvor: <https://algae-lab.com/shop/living-algae/culture-starter/spirulina-maxima-live-algae-2/>. Pristup: 23.08.2022.

*Spirulina* je jedna od perspektivnijih cijanobakterija, bogata proteinima, esencijalnim aminokiselinama, vitaminima, mineralima i mnogim fitonutrijentima. *Spirulina* ima visoku koncentraciju proteina sa 60-70% njegove suhe težine, ovisno o izvorima. Sadrži sve esencijalne aminokiseline kiseline, uključujući leucin, izoleucin i valin, iako sa smanjenim količinama metionina, cistin i lizin u usporedbi sa standardnim proteinima poput onih iz mesa, jaja, odnosno mlijeka (Vo i sur. 2015.). Od masnih kiselina može sadržavati linolensku, linolnu, stearidonsku, eikosapentaensku, dokozaheksaensku i arahidonsku kiselinu. Štoviše, sadržavaju relativno visoke koncentracije vitamina B1 (tiamina), B2 (riboflavin), B3 (nikotinamid), B6 (piridoksin), B9 (folna kiselina), B12 (cijanokobalamin), vitamin C, vitamin D i vitamin E (Vo i sur. 2015.). *Spirulina* se stoga koristi kao dodatak ljudskoj prehrani i u stočnoj hrani. Komercijalna *Spirulina* sp. obično se proizvodi u velikim količinama u bioreaktorima u kontroliranim uvjetima.

Spirulina se široko koristi za kuhanje piva u mnogim mikropivovarama diljem svijeta. U Sjedinjenim Državama neke mikropivovare proizvode sezonsko pivo, koje se naziva "zeleno pivo" (slika 24) za Dan sv. Patrika. U pravilu se kuha pšenično pivo sa spirulinom u prahu koja je poluslatka. Udio alkohola u ovom pivu je 5%, a ekstrakt *Spirulina* sp samo 0,5% (Park i sur. 2018.). Iako su zabilježene brojne zdravstvene dobrobiti *Spirulina* sp., kombinacijom uz pivo nisu testirane, stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi se utvrdilo daje li *Spirulina* sp. više zdravstvenih prednosti alkoholnim pićima.



Slika 24. Škotsko zeleno pivo dobiveno ekstraktom fikocijanina iz *Spirulina* sp. Izvor: <https://scotbio.com/news/green-beer-from-blue-algae> .Pristup: 24.08.2022.

Zbog sve veće pojave cijanotoksina (mikrocistina), uslijed pojava toksičnog cvjetanja voda, postoji mogućnost kontaminacije kulture na otvorenom drugim cijanobakterijama. Iako se prema većini literaturnih navoda upućuje na sigurnost *Spirulina* sp. kao dodatak hrane, ipak treba voditi strogu i pouzdanu kontrolu ovih toksina kako bi se spriječili ozbiljni javnozdravstveni problemi (više u sljedećem poglavlju).

### 5.3. Toksini cijanobakterija u hrani i vodi

Cijanotoksini su sekundarni metaboliti koje proizvode određene toksične vrste cijanobakterija. Ove bakterije koje proizvode cijanotoksin negativno utječu na ekosustave jer koloniziraju širok raspon niša u vodenom i kopnenom okolišu. Problem proizvodnje cijanotoksina se povećava zbog progresivne eutrofikacije uslijed antropogenog utjecaja. Mnoga ispitivanja upućuju na toksičan efekt cijanotoksina i na njegovu bioakumulaciju u hrani što ugrožava ljudsko zdravlje i životnu okolinu.

Cijanotoksini su vrlo raznoliki u svojim fizičko-kemijskim svojstvima i toksičnosti. Postoji nekoliko pristupa za klasifikaciju ili kategorizaciju cijanotoksina ovisno o njihovoj kemijskoj strukturi (ciklički peptidi, alkaloidi i lipopolisaharidi) ili bakterijskim vrstama koje proizvode (*Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria* itd.) (Abdallah i sur. 2021.). Drugi načini grupiranja mogu biti prema djelovanju organa u tijelu ili njegovom mehanizmu toksičnosti. Općenito se klasificiraju u hepatotoksine

(npr. mikrocistini, cilindropermopsini i nodularini), neurotoksine (npr. anatoksin-a, anatoksin-a(s), saksitoksine) i dermatotoksine ili iritantne toksine (npr. lipopolisaharidi, lyngbyatoxin, aplisiatoksini) (Abdallah i sur. 2021.).

Mikrocistini su najviše istražena skupina cijanobakterijskih toksina zbog njihove rasprostranjenosti u slatkovodnim jezerima, ribnjacima, rijekama, estuarijima i obalnim vodama diljem svijeta. Proizvode ga razne toksične vrste najčešće rodova; *Microcystis*, *Planktothrix*, *Limnothrix*, *Dolichospermum*, *Nostoc*, *Phormidium* i dr. Optimalni uvjeti okoliša za formiranje cvjetanja i/ili proizvodnju mikrocistina razlikuju se među vrstama cijanobakterija. Mikrocistini su po strukturi ciklički heptapeptidi koji djeluju na stanične proteine jetre uzrokujući hepatoksičnost, oštećenje jetre, krvarenje i smrt. Akutna trovanja mikrocistinom uglavnom su zabilježena konzumiranjem kontaminirane vode. Prema Abdallah i sur. (2021.) do sada je opisano više od 279 varijanti mikrocistina (rezultat višestrukih kombinacija različitih aminokiselina na funkcionalnim skupinama). Mikrocistin se uglavnom nakuplja u jetri ribe i drugim vodenim organizmima što ne predstavlja stvarnu ugrozu za ljude budući da su ti dijelovi obično nejestivi, no problem predstavlja mogućnost akumulacije u drugim organima. Za biljke, navodnjavanje vodom kontaminiranom mikrocistinima uzrokuje inhibiciju rasta brojnih biljnih vrsta s mogućnošću translokacije i nakupljanja u njihovim jestivim dijelovima. Nodularini su skupina cikličkih pentapeptida cijanotoksina koji uzrokuju trovanje životinja. Trenutno se smatra bezopasnim za čovjeka. Po strukturi je vrlo sličan mikrocistinu (kraći je). Nodularine obično proizvode cijanobakterije *Nodularia spumigena* i bentoska vrsta *Nodularia sphaerocarpa* (Abdallah i sur. 2021.).

Anatoksin prema svojoj strukturi spadaju u alkaloide, najistaknutiji u ovoj skupini je anatoksin-a kojeg uglavnom proizvode *Dolichospermum* sp. (*D. flos-aquae*, *D. planctonica*, *D. circinalis*, *D. spiroide*), *Aphanizomenon* sp., *Oscillatoria* sp. i *Cylindrospermum* sp. (Abdallah i sur. 2021.). Anatoksin-a je cijanotoksin s neurotoksičnim učincima (paraliza respiratornih mišića). Cilindropermopsin je drugi alkaloid kojeg proizvode *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Planktothrix*, *Rhadiopsis*, i *Umezakia* (Abdallah i sur. 2021.). Njegove bioakumulacije zabilježene su u raznim vodenim životinjama i biljkama uglavnom u zemljama u razvoju. Nadalje, alkaloid Saksitoksin sintetiziraju cijanobakterije iz rodova *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Fischerella*, *Geitlerinema*, *Lyngbya*, *Planktothrix*, *Raphidiopsis* i *Scytonema* (Abdallah i sur. 2021.). Ova skupina alkaloidnih cijanotoksina izaziva neurotoksične aktivnosti i mogu dovesti do smrti unutar nekoliko sati. Proizvode ih uglavnom morske vrste gdje se potencijalno nakupljaju u školjkašima. Posljednja skupina koju je bitno spomenuti jesu lipopolisaharidni cijanotoksini. Njihova proizvodnja zabilježena je u vrstama *Microcystis aeruginosa*, *Anacystis nidulans*, *Oscillatoria* sp. i *Dolichospermum* sp. (Abdallah i sur. 2021.). Ljudski kontakt s ovim cijanotoksinima izaziva blaže smetnje kao što su upalne reakcije kože i gastrointestinalne nelagode.

Trovanje cijanotoksinima uglavnom su zabilježena u slabo razvijenim dijelovima Afrike, Azije i Latinske Amerike kao što su Alžir, Etiopija, Uganda, Kenija, Egipat, Indija, Vijetnam, Iran, Argentina, Gvatemala, Meksiko i dr.. Unatoč velikom i široko primjenjivom potencijalu cijanobakterija, ipak se treba u budućnosti provesti više istraživanja o cijanotoksinima kako bi se popunile praznine o znanju istih.

## 6. CIJANOBAKTERIJE U OSTALIM INDUSTRIJAMA

### 6.1. Cijanobakterije u farmaceutskoj industriji i medicini

Glavni fokus u posljednjim desetljećima vezan za farmaceutska otkrića, bio je na otkrivanju biološki aktivnih tvari iz mikrobnih izvora (bakterijskim i gljivičnim) koji su potaknuti otkrićem penicilina iz plijesni *Penicillium notatum* u prvoj polovici dvadesetog stoljeća (Singh i sur. 2011.). Trenutačno dostupni lijekovi učinkoviti su protiv samo jedne trećine bolesti kao rezultat povećane otpornosti patogena na antibiotike. Stoga je za razvoj novih lijekova potrebna identifikacija novih biološki aktivnih spojeva iz drugih mikrobnih izvora, kao što su proteobakterije, bakteriodi i cijanobakterije. Cijanobakterije se pojavljuju kao važan izvor novih bioaktivnih sekundarnih metabolita. Zajedno s proizvodnjom snažnih toksina, cijanobakterije proizvode mnoge tvari koje imaju antifungalna, antibiotska, antimikrobna, antikancerogena, antibakterijska, antikoagulantna, protuupalna, antimalarijska, antituberkulozna, antivirusna i antitumorska svojstva (Vijayakumar i Menakha 2015.). Cijanobakterije proizvode široku paletu biomedicinski zanimljivih bioaktivnih spojeva, čiji su primjeri opisani u tablici 5.

Tablica 5. Bioaktivni spojevi iz cijanobakterija. Prilagođeno iz Abed i sur. (2009).

VRSTE CIJANOBAKTERIJA	BIOAKTIVNI SPOJEVI	BIOLOŠKA AKTIVNOST	REFERENCE
<i>Lyngbya Majuscula</i>	Ciklički polipeptid, Malingolid	Aktivnost protiv HIV- a, Antibakterijski	Rajeev i Xu (2004.) Burja i sur. (2001.)
<i>Oscillatoria Raai</i>	Acetilirani sulfogliko- lipidi	Protivirusno	Reshef i sur. (1997)
<i>Spirulina Platensis</i>	Spirulan, Vitamin B i E	Protivirusno, Antioksidanti i koenzimi	Hayashi i sur. (1991.) Plavšić i sur. (2004.)
<i>Phormidium spp.</i>	Termostabilni enzimi	Kataliza reakcija	Piechula i sur. (2001.)
<i>Nostoc sp.</i>	Nostociklamid	Protugljivično	Moore i sur. (1988.)
<i>Nostoc Spongiaeforme</i>	Nostocin A	Antialgal	Hirata i sur. (1996.)
<i>Scytonema Hofmanni</i>	Cijanobaktericin	Antialgal	Abarzua i sur. (1999.)
<i>Tolypothrix Tenuis</i>	Toiokamicin	Protugljivično i antitumorno	Bankar i Carmeli (1998)
<i>Microcystis Aeruginosa</i>	Kawaguchipeptin B	Antibakterijski	Dahms i sur. (2006.)
<i>Thermosynechococcus Elongatus BP - 1</i>	Termostabilna polifosfat kinaza	Proizvodnja dipeptida	Sato i sur. (2007.)

Bioaktivni spojevi cijanobakterija su prirodni izvor izvanrednih bioaktivnih spojeva (fiziološki aktivnih tvari). Ovi terapijski učinkoviti spojevi mogu se ekstrahirati iz biomase ili uzgojenog medija kao izvanstanični otpušteni metaboliti. Kemijski pripadaju različitim strukturama, kao što su polisaharidi, lipidi, proteini, enzimi, steroli, vitamini i drugi spojevi s

prehrambenim i farmaceutskim značajem koji se mogu koristiti u komercijalnim razmjerima (Saad i sur. 2020.).

Mnoge kronične bolesti kardiovaskularnog sustava, rak, ateroskleroza i starenje proizašle su iz oksidativnog oštećenja uzrokovanog reaktivnim kisikom nukleinskih kiselina, lipida i proteina. Cijanobakterije su od postanka bile izložene dodatnim dozama Sunčevom UV zračenju te su napredovale u teškim uvjetima i ekstremnim okruženjima, stoga su posljedično razvile složen antioksidativni obrambeni sustav za najizloženije makromolekule. Spojevi s antioksidativnim djelovanjem kojeg proizvode cijanobakterije su b-karoten, BHT, fenolni spojevi, lutein, vitamini C i E, astaksantin i kantaksantin (karotenoidi) (Saad i sur. 2020.). Primjer višestrukih bioaktivnih spojeva (složeni peptidi, masne kiseline, poliketidi, alkaloidi, amidi, terpeni, ugljikohidrati i dr.) izvedeni su iz različitih sojeva *Nostoc* sp. koji pokazuju antikancerogena svojstva. Primjerice, boroficin (eng. borophycin) dobiva se iz *Nostoc linckia* i *Nostoc spongiaeforme* var. *tenue*. Njezini metaboliti sadrže bor koji ima učinkovitu citotoksičnost prema stanicama tumora (Vijayakumar i Menakha 2015.). Nadalje, Swain i sur. (2015.) upućuju na potencijalni razvoj lijekova protiv raka pomoću antikancerogenih spojeva koje proizvodi i *Lyngbya* sp.. Osim antikancerogenog djelovanja, *Lyngbya* sp. posjeduje bioaktivne spojeve (malingolid, debromoaplysiatoxin, kuracin A, kalcitonin ..) koji mogu djelovati antibakterijski, protupalno i antivirusno na HIV (Abed i sur. 2009.).

Fikocijanin pokazuje različite farmakološke učinke uključujući antikancerogene, antioksidativne i protuupalne učinke. Ovisno o farmakološkim djelovanjima i jedinstvenim svojstvima, fikocijanin se može razviti kao novi protuupalni agens ili terapijski lijek protiv neurodegenerativnih bolesti kao što su Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest, Huntingtonov poremećaj i dr. (Saad i sur. 2020.).

Cijanobakterije su obećavajući izvor i prirodnih antimikrobnih spojeva sa snažnim antibakterijskim djelovanjem i širokospektralnim djelovanjem protiv bakterija. Zabilježeno je da su mnogi spojevi s antimikrobnim djelovanjem ekstrahirani iz ovih mikroorganizama, kao što su akrilne kiseline, masne kiseline, terpenoidi, steroli, halogenirani alifatski spojevi, heterociklički spojevi koji sadrže sumpor, ugljikohidrati, acetogenini i fenoli (Saad i sur. 2020.). Nadalje, cijanobakterije mogu proizvesti složene nezasićene masne kiseline koje pokazuju antimikrobno djelovanje protiv ljudskih patogena, kao što su *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus aureus*. Primjerice, noscomin, koji je izveden iz medija kulture *N. commune*, pokazuje antibakterijsko djelovanje protiv *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Escherichia coli* (Nowruz i sur. 2017.). Istraživanje Nowruz i sur. (2017.) također navode važnost spoja nostoflana, kiseli polisaharid iz *Nostoc flagelliforme* koji pokazuje antivirusno djelovanje protiv herpes simplex virusa. Nadalje, antifungalna aktivnost cijanobakterija pripisuje se njihovoj sposobnosti da proizvode metabolite koji pripadaju različitim klasama kao što su ciklički depsipeptidi. Izolirani su iz vrsta *Lyngbya* i *Moorea* (Saad i sur. 2020.). Zabilježeno im je antifungalno djelovanje protiv *Candida albicans* bez antibakterijskog djelovanja.

Osim navedenoga, cijanobakterije proizvode širok spektar spojeva koji inhibiraju rast algi, koji se mogu koristiti za kontrolu cvjetanja istih. Cijanobakterije koriste ove spojeve kako bi ograničile rast ostalih mikroorganizama. Inhibitorni spojevi na taj način inhibiraju njihov rast, fotosintezu, disanje, unos ugljika, enzimatsku aktivnost i induciraju oksidativni stres (Abed i sur. 2009.).

Posljednjih godina cijanobakterije se smatraju alternativnim izvorom prirodnih spojeva s primjenom i u kozmetičkoj industriji. Cijanobakterije su sposobne proizvoditi različite metabolite, kao što su flavonoidi, pigmenti (npr.  $\beta$ -karoten, c-fikoeritrin, fikobiliproteini), fenoli, saponini, steroidi, tanini, terpeni i vitamini koji su važne komponente u kozmetičkim pripravcima (Morone i sur. 2019.). Mehanizmi cijanobakterija za zaštitu od zračenja i oksidativnog stresa, kroz proizvodnju navedenih spojeva, čini ovu skupinu organizama obećavajućim izvorima bioaktivnih tvari u kozmetičkoj industriji. Uz potencijale potrebne za kozmetičke formulacije koje bi bile ekonomski prihvatljivije, cijanobakterije posjeduju mogućnost bržeg stvaranja biomase što može učiniti proizvodnju isplativijom (Morone i sur. 2019.). Mnoga istraživanja upućuju na terapijski potencijal cijanobakterija, i njihovu sposobnost stvaranja biološki aktivnih tvari sa širokim rasponom djelovanja kao antimikrobnih, antitumorskih i antivirusnih sredstava. Njihova sposobnost rasta u jednostavnim anorganskim medijima s nižim troškovima uzgoja i širokom raznolikošću njihovih sekundarnih bioaktivnih metabolita upućuju na potencijal u otkrivanju novih lijekova i farmaceutskih proizvoda.

## 6.2. Cijanobakterije u naftnoj industriji i biorafineriji

Iskorištavanje prirodnih resursa u industrijskim procesima, posebno u industrijskom i poljoprivrednom sektoru, ima brojne prednosti uključujući one koje se odnose na uštedu resursa, recikliranje i ponovnu upotrebu otpada. Općenito, potrebne su pojačane i poboljšane globalne strategije za energetske sigurnost i smanjenje emisija CO<sub>2</sub> iz procesa proizvodnje energije, posebno one usmjerene na maksimiziranje energetske učinkovitosti korištenja čiste energije. To znači korištenje goriva koja promiču ciklus ugljika bez promjene atmosferske ravnoteže (obnovljiva goriva) i razvoj energetske izvora u CO<sub>2</sub> neutralnim sustavima (De Farias i sur. 2019.). Konkretno, biogoriva imaju važnu ulogu u smanjenju globalnih klimatskih promjena, što je jedan od glavnih ciljeva biorafinerijskog pristupa.

Biorafinerija se definira kao održiva prerada biomase u široki spektar tržišno prihvatljivih proizvoda (hrana, stočna hrana, materijali, kemikalije) i energiju (goriva, struja, toplina) iz biomase. Biorafinerije proširuju i širi koncept biogoriva, energije i kemikalija iz obnovljivih izvora te promiču koncept ciklusa ugljika, s ciljem održivosti, dok pomažu u smanjenju troškova proizvodnje (De Farias i sur. 2019.). Etanol je glavno biogorivo koje se proizvodi u cijelom svijetu. Bioetanol četvrte generacije još uvijek je tehnologija u nastajanju i odnosi se na proces u kojem se etanol proizvodi bez potrebe za razgradnjom biomase, odnosno korištenjem genetski modificiranih cijanobakterija koje mogu uhvatiti sunčevu svjetlost, vodu i hranjive tvari i pretvoriti ih izravno u etanol "fotofermentacijom". Zbog svoje visoke stope rasta i biokemijskog sastava, cijanobakterije su priznate kao vrlo obećavajuća sirovina za proizvodnju bioetanol, te su fokus istraživanja obnovljivih izvora energije. Cijanobakterije s velikim potencijalom u biorafineriji pripadaju uglavnom rodovima *Arthrospira* sp., *Chlorococcus* sp., *Gloeocapsa* sp., *Synechocystis* sp. i *Synechococcus* sp. (De Farias i sur. 2019.). Cijanobakterije moraju osigurati visoku stopu proizvodnje ugljikohidrata ako se želi dobiti bioetanol iz fermentacije. Naime, prehrambene tehnike (izgladnjivanje hranjivim

tvarima i izvor ugljika), slani stres, intenzitet svjetlosti i temperatura mogu se primijeniti u tu svrhu. Pod odgovarajućim uvjetima, vrste mikroalgi/cijanobakterija mogu akumulirati ugljikohidrate s udjelom mase suhe stanice do 60% (De Farias i sur. 2019.). Cijanobakterije su sposobne proizvoditi različite vrste biogoriva poput etanola, acetona, masnih kiselina, izobutanol, 2,3-butandiol, 1-butanol, itd. pomoću genetičkog inženjerstva (Saini i sur., 2018). Cijanobakterijama se također može lakše genetski manipulirati. Veličina genoma cijanobakterija je relativno mala i do danas su sekvencionirani genomi nekoliko rodova stoga cijanobakterije pružaju iznimnu priliku za provođenje studija genetskog i metaboličkog inženjeringa za poboljšanu proizvodnju biomase, što je relativno teško učiniti s eukariotskim algama.

Istraživanje Jiang i sur. (2019.) navode sposobnosti slatkovodne *Spirulina subsalsa* kao potencijalnu sirovinu u proizvodnji biogoriva. *Spirulina subsalsa* u navedenom istraživanju postizala je veliku akumulaciju lipida, proteina, karotenoida i fitola uslijed prilagođavanja na slanu okolinu (medij-morska voda) uz dodatak mononatrijevog glutamata (jeftini izvor hranjivih tvari). Također, proizvodnja biogoriva iz cijanobakterija korištenjem genetskog inženjeringa testirana je i na *Synechocystis* sp. PCC 6803 i *S. elongatus* PCC 7942, čiji su genomi potpuno sekvencionirani, a molekularne tehnike dobro uhodane (Pathak i sur. 2018.). Međutim, faza recikliranja vode i hranjivih tvari te ponovna uporaba lipida u procesu saharifikacije biomase, ekstrakcije šećera/lipida energetsko-ekonomski još uvijek nije isplativa. Stoga je uzgoj cijanobakterija za biogoriva još uvijek skup.

Nadalje, cijanobakterijski vodik smatra se vrlo obećavajućim izvorom alternativne bioenergije, bioplinom. Tako je na primjer *S. elongatus* PCC 7942 bila prva genetski modificirana cijanobakterija koja je učinkovito proizvodila bioetanol (Saini i sur., 2018). Novije istraživanje Kossalbayev i sur. (2022.) ističu potencijal sojeva iz *Anabaena variabilis* i *Synechocystis* sp. kao najaktivnije proizvođače H<sub>2</sub> na svijetu.

Cijanobakterijska sposobnost ispituje se i u dobivanju električne struje. Dobivanje električne energije iz *Trichodesmium erythraeuma* opisano je u istraživanju Shlosberg i sur. (2022.). Izvor elektrona dolazi iz respiratornih ili fotosintetskih putova, preko redoks para NADP<sup>+</sup>/NADPH koji posreduje u cikličkom transportu elektrona između fotosustava I (PSI) unutar stanica i anode. Također, Shlosberg i sur. (2022.) navode mogućnost pojačanja „fotostruje“ dodavanjem medijatora elektrona kao što su NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>, citokrom C, vitamin B1 ili kalijev fericijanid. Mogućnost dobivanja struje ovim putem imaju sojevi *Synechococcus elongatus* PCC7942, *Acaryochloris marina* MBIC 11017, *Synechocystis* sp. PCC6803 (Shlosberg i sur. 2022.).

## 7. ZAKLJUČAK

Pregledom bibliografije, utvrđena je svestranost cijanobakterija u biotehnološkim primjenama. Izvor su brojnih bioaktivnih spojeva koji se koriste u implikaciji okoliša, održive poljoprivredne prakse, farmaceutskih lijekova, biogoriva i drugih vrijednih popratnih proizvoda. Njihova duga postojanost i prilagodljivost u različitim uvjetima okoliša (slanosti, temperature, pH, UV zračenja i intenziteta svjetlosti) omogućila im je postojanost različitih sojeva, brojnih bioaktivnih spojeva, zanimljivih morfologija i složenih staničnih metabolizama.

U poljoprivrednoj proizvodnji cijanobakterije nalaze primjenu kao biognojivo, stočna hrana i biogorivo. Dokazano poboljšavaju organski i mineralni status poljoprivrednog tla, fizikalno kemijski status tla, djeluju izravno na rast i razvoj usjeva proizvodnjom fitohormona i neizravno uništavanjem patogenih mikroorganizama. Cijanobakterije imaju važnu ulogu i potencijal u bioremedijaciji onečišćenih tla, otpadnih voda i smanjenju onečišćenja zraka. Njihova korist u ovom segmentu još je u razvoju te se poboljšava genetičkim manipulacijama. Korištenje cijanobakterija (*Arthrospira platensis*, *A. maxima* i *A. fusiformis*) kao hrana i dodatak hrani opće je prihvaćena i zakonski regulirana, međutim postoje praznine koje je potrebno dodatno utvrditi kako bi se mogao proizvoditi zdravstveno siguran i ispravan prehrambeni proizvod. Nadalje, proizvodnja biološki aktivnih metabolita cijanobakterija te njihovo dokazano antimikrobno, antivirusno, antikancerogeno i antifungalno djelovanje osigurava izvor stvaranja novih kemijskih i farmaceutski zanimljivih spojeva. Zaključno, sposobnost proizvodnje velike biomase i akumulacije rezervnih tvari, cijanobakterije predstavljaju potencijal masovne proizvodnje biogoriva, bioplina i bioenergije za što je potrebno izvesti dodatna istraživanja kako bi se postigla ekološka, ali i ekonomska održivost.

## 8. LITERATURA

1. Abed R.M.M., Dobretsov S., Sudesh K. (2009). Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*. 106(1): 1-12.
2. Singh R., Tiwari S., Rai A. (2011). Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. *J Antibiot* 64: 401–412.
3. Park J., Han T., Yarish C., Kim J. K. (2018). Microalgae and Alcohol. *Microalgae in Health and Disease Prevention*, 227-234.
4. Vo T.-S., Ngo D.-H., Kim, S.-K. (2015). Nutritional and Pharmaceutical Properties of Microalgal Spirulina. *Handbook of Marine Microalgae*, 299-308.
5. Jiang L., Sun J., Nie C., Li Y., Jenkins J., Pei, H. (2019). Filamentous cyanobacteria triples oil production in seawater-based medium supplemented with industrial waste: monosodium glutamate residue. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1): 1-16.
6. Shlosberg Y., Spungin D., Schuster G., Berman-Frank I., Adir N. (2022). *Trichodesmium erythraeum* produces a higher photocurrent than other cyanobacterial species in bio-photo electrochemical cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1863(8): 148910.
7. Kossalbayev B.D., Kakimova A.B., Bolatkhan K., Zayadan B.K., Sandybayeva S.K., Bozieva A.M., Sadvakasova A.K., Alwasel S., Allakhverdiev S.I. (2022). Biohydrogen production by novel cyanobacterial strains isolated from rice paddies in Kazakhstan. *International Journal of Hydrogen Energy*. 47(37): 16440-16453.
8. Alsamhary K. I. (2020). Effects of salinity and wastewater on the growth of *Synechococcus elongatus* (strain PCC 7942) and some of its cellular components. *Journal of King Saud University - Science*, 32(8): 3293-3300.
9. Mittal Y., Srivastava P., Kumar N., Yadav, A. K. (2020). Remediation of fluoride contaminated water using encapsulated active growing algae. *Environmental Technology & Innovation*, 100855: 1-11.
10. Zafar A.M., Javed M.A., Hassan A.A., Sahle-Demmesie E., Harmon S. (2022.). Biodesalination using halophytic cyanobacterium *Phormidium keutzingianum* from brackish to the hypersaline water. *Chemosphere*. 136082.
11. Pathak J., Rajneesh Maurya P. K., Singh S. P., Häder D.P., Sinha R. P. (2018). Cyanobacterial Farming for Environment Friendly Sustainable Agriculture Practices: Innovations and Perspectives. *Frontiers in Environmental Science*, 6: 1-13.
12. De Farias Silva C. E., Barbera E., Bertucco A. (2019). Biorefinery as a Promising Approach to Promote Ethanol Industry From Microalgae and Cyanobacteria. *Bioethanol Production from Food Crops*, 343-359.
13. Saad M. H., El-Fakharany E. M., Salem M. S., Sidkey N. M. (2020). The use of cyanobacterial metabolites as natural medical and biotechnological tools: review article. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-23.
14. Morone J., Alfeus A., Vasconcelos V., Martins R. (2019). Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals — A new bioactive approach. *Algal Research*, 41,101541: 1-9.

15. Abdallah M.F., Van Hassel W.H.R., Andjelkovic M., Wilmotte A., Rajkovic A. (2021). Cyanotoxins and Food Contamination in Developing Countries: Review of Their Types, Toxicity, Analysis, Occurrence and Mitigation Strategies. *Toxins (Basel)*. 13(11): 786.
16. Swain S. S., Padhy R. N., Singh P. K. (2015). Anticancer compounds from cyanobacterium *Lynghya* species: a review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108(2): 223-265.
17. Włodarczyk A., Selão T.T., Norling B., Nixon P.J. (2020). Newly discovered *Synechococcus* sp. PCC 11901 is a robust cyanobacterial strain for high biomass production. *Communications Biology*. 3(215): 1-14.
18. Nowruzi B., Haghghat S., Fahimi, H., Mohammadi E. (2017). *Nostoc* cyanobacteria species: a new and rich source of novel bioactive compounds with pharmaceutical potential. *Journal of Pharmaceutical Health Services Research*, 9(1): 5-12.
19. Callieri C. (2017). *Synechococcus* plasticity under environmental changes. *FEMS Microbiology Letters*, 364(23): 1-8.
20. Singh R., Parihar P., Singh M., Bajguz A., Kumar J., Singh S., Prasad S. M. (2017). Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1-37.
21. Vijayakumar S., Menakha M. (2015). Pharmaceutical applications of cyanobacteria—A review. *Journal of Acute Medicine*, 5(1): 15-23.
22. Panjjar N., Mishra S., Yadav A. N., Verma P. (2017). Functional Foods from Cyanobacteria. *Microbial Functional Foods and Nutraceuticals*. 21-37.
23. Saini D. K., Pabbi S., Shukla P. (2018). Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. *Food and Chemical Toxicology*, 120: 616-624.
24. Biology learner: Cell Structure of Cyanobacteria, 2022. Author: Animesh Sahoo. <https://biologylearner.com/cell-structure-of-cyanobacteria/> - pristup 18.08.2022.
25. Bolf N. (2020). Biotehnologija. Osvježimo znanje, *Kem. Ind.* 69(5-6): 326-327.
26. Dvořák P., Jahodářová E., Casamatta D.A., Hašler P, Aloisie Poulíčková A. (2018). Difference without distinction? Gaps in cyanobacterial systematics; when more is just too much. *Journal of the Czech Phycological Society*. 18(1): 130-136.
27. Bejjanki D., Muthukumar K., Radhakrishnan T. K., Alagarsamy A., Pugazhendhi A., Mohamed S. N. (2020). Simultaneous bioelectricity generation and water desalination using *Oscillatoria* sp. as biocatalyst in photosynthetic microbial desalination cell. *Science of The Total Environment*, 142215: 1-9.
28. Nagasathya A., Thajuddin N. (2008.). Decolorization of paper mill effluent using hypersaline cyanobacterium. *Research Journal of Environmental Sciences*, 2: 408-414.
29. Firoozjahi A.M., Hassani S., Nazifi E., Keypour S. (2021). Study the Effect of the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc commune* Aqueous Extract on Seed Germination and Seedling Growth of Rice. *Journal of Phycological Research*, 5(1): 642-653.
30. Ghareeb R.Y., Abdelsalam N.R., Maghraby D.M., Ghozlan M.H., EL-Argawy E., Abou-Shanab R.A.I. (2022). *Oscillatoria* sp. as a Potent Anti-phytopathogenic Agent and Plant Immune Stimulator Against Root-Knot Nematode of Soybean cv. Giza 111. *Front. Plant Sci.* 13: 870518.

31. Liu D., Liberton M., Hendry J. I., Aminian-Dehkordi J., Maranas C. D., & Pakrasi H. B. (2021). Engineering biology approaches for food and nutrient production by cyanobacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 67: 1-6.
32. Strunecký O., Komárek J., Johansen J., Lukešová A., Elster J. (2013). Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (*Oscillatoriales*, Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 49(6): 1167-1180.
33. Hanzer R. (2016). Funkcijska analiza domene PEPE proteina TROL iz biljke *Arabidopsis thaliana* (L.) i njezina uloga u regulaciji fotosinteze. Doktorska disertacija. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Osijek.
34. Jung F., Kruger-Genge A., Waldeck P., Kupper J.H. (2019). *Spirulina platensis*, a super food?. *Journal of Cellular Biotechnology*. 5: 43-54.
35. Komárek J. (2016). A polyphasic approach for the taxonomy of cyanobacteria: principles and applications. *European Journal of Phycology*. 51(3): 346-353.
36. Ma R., Lu F., Bi Y. (2015). Effects of light intensity and quality on phycobiliprotein accumulation in the cyanobacterium *Nostoc sphaeroides* Kützinger. *Biotechnol* 37: 1663-1669.
37. Azarpira H., Behdarvand P., Dhumal K., Pondhe G. (2014). Potential use of cyanobacteria species in phycoremediation of municipal wastewater. *International Journal of Biosciences (IJB)*: 105-111.
38. Loza V., Perona E., Carmona J., Mateo P. (2013). Phenotypic and genotypic characteristics of *Phormidium*-like cyanobacteria inhabiting microbial mats are correlated with the trophic status of running waters. *European Journal of Phycology*, 48(2): 235-252.
39. Malyan S. K., Singh S., Bachheti A., Chahar M., Sah M. K., Narender, Kumar S.S. (2020). Cyanobacteria: A perspective paradigm for agriculture and environment. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 215-224.
40. Meeks J. C., Elhai J. (2002). Regulation of Cellular Differentiation in Filamentous Cyanobacteria in Free-Living and Plant-Associated Symbiotic Growth States. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(1): 94-121.
41. Priyadarshani I., Sahu D., Rath B. (2012). Microalgal bioremediation : Current practices and perspectives. *J Biochem Tech*, 3(3): 299-304.
42. Múnera-Porras L. M., García-Londoño S., Ríos-Osorio L. A. (2020). Action Mechanisms of Plant Growth Promoting Cyanobacteria in Crops In Situ: A Systematic Review of Literature. *International Journal of Agronomy*, 2020: 1-9.
43. Mutoti M., Gumbo J., Obiefuna Jideani A.I. (2022). Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review. *Physics and Chemistry of the Earth*. 1-10.
44. Nabout J. C., da Silva Rocha B., Carneiro F. M., Sant'Anna C. L. (2013). How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. *Biodiversity and Conservation*, 22(12): 2907-2918.
45. Nowruzi B., Khavari-Nejad R., Sivonen K., Kazemi B., Najafi F., Nejadstari T. (2012). Identification and toxigenic potential of a *Nostoc* sp. *The Korean Society of Phycology. Algae*, 27(4): 303-313.
46. Oksanen I., Jokela J., Fewer D. P., Wahlsten M., Rikkinen J., Sivonen K. (2004). Discovery of Rare and Highly Toxic Microcystins from Lichen-Associated

- Cyanobacterium Nostoc sp. Strain IO-102-I. Applied and Environmental Microbiology, 70(10): 5756-5763.
47. Pereira A. L. (2018). The Unique Symbiotic System between a Fern and a Cyanobacterium, *Azolla-Anabaena azollae*: Their Potential as Biofertilizer, Feed, and Remediation. Symbiosis. 1-18.
  48. Prasanna R., Babu S., Rana A., Kabi S. R., Chaudhary V., Gupta V., Pal R. K. (2012). Evaluating the establishment and agronomic proficiency of cyanobacterial consortia as organic options in wheat–rice cropping sequence. Experimental agriculture, 49(03): 416-434.
  49. Prasanna R., Triveni S., Bidyarani N., Babu S., Yadav K., Adak A., Saxena A. K. (2013). Evaluating the efficacy of cyanobacterial formulations and biofilmed inoculants for leguminous crops. Archives of Agronomy and Soil Science, 60(3): 349-366.
  50. Rastogi R.P., Sinha R.P. (2009). Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. Biotechnology Advances. 27(4): 521-539.
  51. Rocha F., Esteban Lucas-Borja M., Pereira P., Muñoz-Rojas M. (2020). Cyanobacteria as a Nature-Based Biotechnological Tool for Restoring Salt-Affected Soils. Agronomy, 10(9): 1321.
  52. Sciuto K., Moro I. (2015). Cyanobacteria: the bright and dark sides of a charming group. Biodiversity and Conservation, 24(4): 711-738.
  53. Silva P.G., Gonza´lez D.M., Aguilar E.G., Silva H.J. (1998). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 14(2): 223-228.
  54. Singh J. S., Kumar A., Rai A. N., Singh D. P. (2016). Cyanobacteria: A Precious Bio-resource in Agriculture, Ecosystem, and Environmental Sustainability. Frontiers in Microbiology, 7: 1-19.
  55. Sinha R. ., Vaishampayan A., Häder D.-P. (1999). Plant-cyanobacterial symbiotic somaclones as a potential bionitrogen-fertilizer for paddy agriculture: biotechnological approaches. Microbiological Research, 153(4): 297-307.
  56. Storni de Cano M., Zaccaro M.C., García I., Stella A.M., Zulpa de Caire G. (2003). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 19(1): 29-34.
  57. Swarnalakshmi K., Prasanna R., Kumar A., Pattnaik S., Chakravarty K., Shivay Y. S., Saxena A. K. (2013). Evaluating the influence of novel cyanobacterial biofilmed biofertilizers on soil fertility and plant nutrition in wheat. European Journal of Soil Biology, 55: 107-116.
  58. Uddin A. F. M., Rakibuzzaman M., Wasin E. W., Husna M. A., Mahato A. K. (2019). Foliar application of *Spirulina* and *Oscillatoria* on growth and yield of okra as bio-fertilizer. Journal of Bioscience and Agriculture Research, 22(02): 1840-1844.
  59. Veaudor T., Blanc-Garin V., Chenebault C., Diaz-Santos E., Sassi J.-F., Cassier-Chauvat C., Chauvat F. (2020). Recent Advances in the Photoautotrophic Metabolism of Cyanobacteria: Biotechnological Implications. Life, 10(5): 71-97.
  60. Fernandez J.F.S., Gonzalez-Lopez C.V., Fernandez F.G.A. (2012). Utilization of *Anabaena* sp. in CO<sub>2</sub> removal processes. Appl Microbiol Biotechnol 94: 613-624.
  61. Wang K., Hu B., Zheng C., Deng Z., Duan J., Qin K., Cui X., Li S. (2022). Application of *Anabaena azotica*- and *Chlorella pyrenoidosa*-Based Algal Biotechnology in Green

- Production of Algae-Rich *Crataegi fructus*. Hindawi. Journal of Healthcare Engineering, 2022: 1-7.
62. González-Resendiz L., Sánchez-García L., Hernández-Martínez I., Viguera-Ramírez G., Jiménez-García L. F., Lara-Martínez R., Morales-Ibarria M. (2021). Photoautotrophic poly(3-hydroxybutyrate) production by a wild-type *Synechococcus elongatus* isolated from an extreme environment. *Bioresource Technology*, 337: 125508, 1-9.
  63. Zahra Z., Choo D. H., Lee H., Parveen A. (2020). Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. *Environments*, 7(2): 13.
  64. Wang Z.P., Zhao Y. (2005). Morphological reversion of *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Cyanophyta): from linear to helical. *Journal of Phycology*. 41(3): 622-628.

## 9. Životopis

Lucija Sklepić rođena je 07.03.1998. godine u Sisku, u Republici Hrvatskoj. Školovanje je započela 2004. godine u 1.OŠ Petrinja. Godine 2012. upisala se u Srednju školu Petrinja, smjer prehrambeni tehničar. Cijelo srednjoškolsko obrazovanje, kao i završni rad, položila je s odličnim uspjehom te stekla srednju stručnu spremu, prehrambenog tehničara 2016. godine. Iste godine sudjelovala je na državnom natjecanju u obrazovnom sektoru prehrana, u disciplini Nutri-vita, u organizaciji Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta. Na osnovi postignutog uspjeha u srednjoj školi i uspješno položenih matura nastavlja obrazovanje na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala se 2016. godine, smjer „Agroekologija“. Uspješno je položila sve predmete, obranila završni rad pod naslovom „Ekologija planinskog vrijeska (*Satureja subspicata* VIS.)“ te upisala diplomski smjer Mikrobne biotehnologije u poljoprivredi 2019. godine. 2020. godine sudjeluje u izradi znanstvenog rada „Potencijalna rasprostranjenost ljekovitih i medonosnih biljnih vrsta roda *Satureja* L. (*Lamiaceae*) u Hrvatskoj“, a 2021. godine primila je dekanovu nagradu za studentski rad pod naslovom „Izolacija i identifikacija mikrosimbionata soje (*Glycine max* L.) u kontinentalnoj Hrvatskoj“. Također je, tijekom fakultetskog obrazovanja u slobodno vrijeme, stjecala radna iskustva i usavršavala znanja u području svoje struke.