



FIKOLOGIJA



Zorica Svirčev i Jelica Simeunović

Departman za biologiju i ekologiju

Prirodno-matematički fakultet

Univerzitet u Novom Sadu

PREDGOVOR

Udžbenik **Fikologija** je napisan za studente viših godina studija biologije, nadovezujući se na osnove mikrobiologije i biohemije. Termin fikologija je nastao kombinacijom grčkih reči *φύκος* koja znači "morska alga" i *λογία* - nauka, znanje, učenje. U tom smislu fikologija predstavlja nauku o prokariotskim i eukariotskim fotoautotrofnim organizmima koji se odlikuju nižim stepenom razvoja vegetativnog tela u odnosu na više biljke. Prema navedenoj definiciji fikologija proučava cijanobakterije, mikro i makroalge.

Autori udžbenika **Fikologija** su redovni profesori Departmana za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu dr Jelica Simeunović, koja je priredila prvih pet poglavlja udžbenika Fikologija i dr Zorica Svirčev, koja je napisala narednih pet poglavlja. U prvom delu udžbenika autori su imali cilj da ukažu na specifičnu morfološku organizaciju cijanobakterija i algi, da ukratko predstavljaju glavne grupe algi i reprezentativne predstavnike, da detaljno obrade način formiranja kolekcije kultura kao i kultivaciju cijanobakterija i algi, što je glavni preduslov u istraživanju i biotehnološkoj primeni ove raznolike grupe organizama. S obzirom na to da postoji sve veći interes za ispitivanjem različitih bioaktivnih jedinjenja koji se mogu primeniti kao nutraceutici i terapijski agensi, u udžbeniku je detaljno obrađen biohemijski potencijal glavnih grupa algi kao i mogućnost njihove biotehnološke primene. Poseban deo se odnosi na ekologiju, u kom su, pored osnovnih ekoloških grupa cijanobakterija i algi i odnosa prema faktorima sredine, obrađene i strategije njihovog preživljavanja u ekstremnim staništima.

U drugom delu udžbenika, počevši od 6.poglavlja, cilj je bio da se objasni značaj mikroalgi i cijanobakterija u akvatičnim i terestričnim ekosistemima, kako bi se studenti pripremili za rešavanje različitih problema vezanih za kvalitet vode, zemljišta i vazduha i doprineli u značajnoj meri zaštiti životne sredine, posebno u uslovima globalnih klimatskih promena. Ideja autora je da studenti, kojima je ovaj udžbenik namenjen, mogu uspešno da ga koriste ne samo za savladavanje gradiva i polaganje ispita, nego pre svega za primenu stečenog znanja u praksi. Iz tog razloga su mnoge smernice prikazane kroz detaljne tabele i instrukcije, posebno u delu koji se odnosi na Mere predostrožnosti i kontrole zdravstvenog rizika od delovanja cijanotoksina. Pored negativnih posledica koje akvatične cijanobakterije mogu prouzrokovati u vodenim ekosistemima i u odnosu na zdravlje ljudi i životinja, naglasak je u drugom delu udžbenika stavljen na ulogu i značaj terestričnih cijanobakterija uvođenjem novog termina "sinergoza" i predstavljanjem nove "BLOCDUST" teorije o ulozi cijanobakterija u formiranju lesnih sedimenata. Na bazi ovog fundamentalnog prikaza navedene su aplikativne smernice u procesima rekultivacije oštećenih i aridnih površina, kao i elementi paleoklimatske rekonstrukcije na bazi biomarkera terestričnih cijanobakterija. Posebni naponi u ovom delu udžbenika su učinjeni da se vrlo detaljno predstavi stanje u svetu i u Republici Srbiji u okviru svih obrađenih poglavlja sa željom da se motivisanim studentima predstavi najrealniji okvir njihovog mogućeg angažovanja i učešća u rešavanju veoma aktuelnih problema izazvanih mikroalgama i cijanobakterijama, a koji ne poznaju granice i geografske podele. Baš kao ni ovaj udžbenik!

U Novom Sadu, 05.08.2021.godine

Autori

1. OPŠTE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Alge predstavljaju veliku i veoma raznovrsnu polifiletsku grupu fotoautotrofa koji se ubrajaju u carstvo Protista. Izuzetak medju njima su cijanobakterije koje su jedini prokariotski oksigeni fotoautotrofi svrstani u grupu Eubacteria. Obe ove grupe se poput biljaka odlikuju fotosintetičkim aparatom zahvaljujući kojem mogu da vrše oksigenu fotosintezu. Međutim, pojedine alge poseduju određene karakteristike koje su svojstvene životinjama, kao što su pokretljivost i heterotrofni način ishrane. Kao primarni producenti organske materije, alge su prva karika u lancima ishrane u različitim ekosistemima koje naseljavaju. Rasprostranjene su u skoro svim sredinama uključujući i one sa ekstremnim uslovima. S obzirom na veličinu vegetativnog tela i njegovu organizaciju, sve alge se mogu podeliti u dve velike grupe, **mikroalge** i **makroalge**. Procenjuje se da se broj vrsta algi kreće od 1 do 10 miliona pri čemu većinu predstavljaju mikroalge.

1.1. Morfološka organizacija talusa cijanobakterija i algi

Alge se u morfološkom pogledu odlikuju specifičnim vegetativnim telom koje se naziva **talus**. Talus može da se razlikuje u pogledu veličine, oblika i stepena morfološke organizacije. Veliki diverzitet u pogledu veličine talusa se odražava kroz postojanje algi koje su mikroskopskih dimenzija koje spadaju u podgrupu mikroalgi (manje od 1 mm), pa sve do džinovskih talusa marinskih algi koji mogu imati dužinu preko 60 metara (tkz. kelp) i koje nose naziv makroalge.

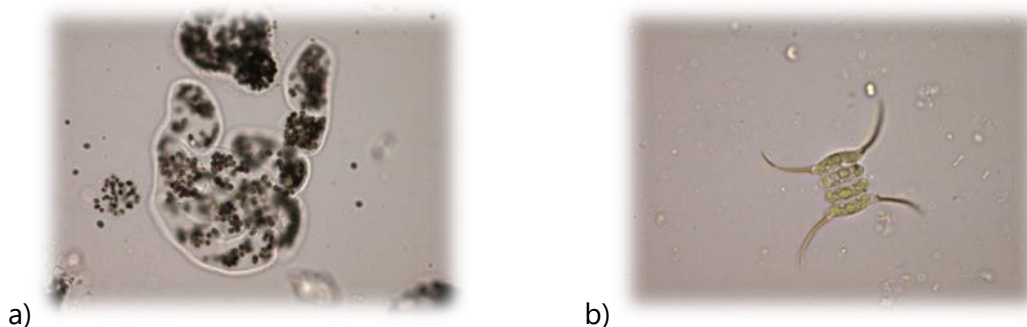
Prema morfološkoj složenosti i građi, talusi algi se svrstavaju u nekoliko osnovnih tipova: **jednoćelijski, kolonijski, kapsalni, sifonalni i višećelijski**.

Jednoćelijski talusi su najjednostavniji i najprimitivniji tip talusa kod kojeg se razlikuju sledeće razvojne linije: **rizopodijalni** (prisustvo rizopodija kao lokomotornih organela), **monadoidni** (aktivno pokretni talus usled prisustva flagela) i **kokoidni** (nepokretan talus sa diferenciranim ćelijskim zidom) tip.

Kolonijski tip talusa podrazumeva više ili manje organizovane komplekse ili grupacije ćelija koje su i u morfološkom i u fiziološkom smislu samostalne i nezavisne, odnosno koje zadržavaju svoj integritet u okviru kolonije. Ukoliko je broj ćelija u okviru kolonije promenljiv tokom životnog veka, takva kolonija se označava kao **kolonija otvorenog tipa** (primer je rod *Microcystis*). Ukoliko broj ćelija ostaje konstantan do sledeće reproduktivne faze, onda se takve kolonije nazivaju

1. OPŠTE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA I ALGI

zatvorenim kolonijama ili **cenobijama** (primer je rod *Scenedesmus*). Kolonije se mogu razlikovati i po građi, tako da se sa tog aspekta mogu razlikovati **monomorfne** kolonije i cenobije (građene od identičnih ćelija) (Slika 1a) i **polimorfne** kolonije i cenobije (građene od ćelija koje se međusobno razlikuju) (Slika 1b). Ukoliko ćelije koje grade koloniju imaju odgovarajuće organele za kretanje, takve kolonije su onda pokretne (rod *Eudorina*).



Slika 1. Tipovi kolonija/cenobija na osnovu građe: a) monomorfna kolonija otvorenog tipa - rod *Microcystis*; b) polimorfna cenobija - rod *Scenedesmus* (foto Simeunović)

Kapsalna organizacija talusa algi predstavlja prelazni tip između monadnog i kokoidnog tipa talusa, a podrazumeva nepokretne grupacije ćelija koje su raspoređene unutar sluzne mase (primer je rod *Tetraspora*). Ovaj tip talusa je još poznat pod nazivima hemimonadni, palmelodini, tetrasporalni i transgresivni.

Specifičan tip jednoćelijskog talusa algi predstavlja **sifonalni talus** kod kojeg se pregrade obrazuju samo u određenim okolnostima kao što su povrede ili formiranje reproduktivnih organa (primer je rod *Vaucheria*). Ovi talusi se odlikuju dobro razvijenim ćelijskim zidom i citoplazmom sa obično velikim brojem jedara (cenocitična građa). Sifonalni talusi mogu biti različite veličine i oblika: mehurast, končast, listast, kormoidan.

Poseban tip talusa predstavlja **sifonokladalni** koji se javlja kod jedne grupe zelenih algi, a predstavlja talus koji se sastoji od većeg broja višejedarnih segmenata koji se obrazuju segregativnim deobama protoplasta talusa (rod *Cladophora*).

Kod **višećelijskog tipa talusa** se u pogledu složenosti morfološke organizacije mogu razlikovati: trihalni, heterotrihalni, pseudoparenhimatičan, parenhimatičan kormoidan talus. **Trihalni talus** se javlja u vidu negranate (npr. rod *Ulothrix*) ili granate niti (npr. rod *Stigonema*) koja se sastoji od većeg broja ćelija raspoređenih u nizu nastalih transferzalnim deobama. Ukoliko je končast talus građen od

identičnih ćelija onda se on označava kao homocitni (npr. rod *Oscillatoria*), a ukoliko se u sastavu talusa pored vegetativnih ćelija nalaze i ćelije drugačijeg oblika, veličine ili funkcije onda se talus označava kao heterocitni (npr. rod *Anabaena*).

Heterotrihalni talus je složeniji tip končastog talusa koga čine dva sistema niti, jedne koje se rasprostiru po supstratu, dok druge niti rastu uspravno sa tih puzećih delova talusa.

Preplitanjem i srašćivanjem razgranatih niti (obavijene sluzavim omotačem), može se obrazovati **pseudoparenimatičan tip talusa** koji je vrlo čest kod crvenih algi (rod *Palmaria*). Za razliku od njega, **parenhimatičan tip talusa** nastaje deobom ćelija najčešće u dve (jednoslojan) ili tri ravni (dvoslojan) i predstavlja najsloženiji višećelijski tip talusa (rod *Porphyra*). Rast takvih talusa može biti apikalni (rast deobom vršne meristemske ćelije), interkalaran (rast deobom meristemske ćelije koje su umetnute u talusu) i difuzan (rast deobom svih ćelija talusa).

Mnogi predstavnici višećelijskih algi se odlikuju talusima koji se diferenciraju tako da liče na vegetativno telo viših biljaka, zbog čega se označavaju kao **kormoidni talusi** (primer je rod *Fucus*). Na njima je moguće razlikovati tri osnovna dela: rizoid (analog korenu viših biljaka), kauloid (stabloliki deo) i filoid (listoliki deo). Kod takvih talusa morfološki složeniju građu prati i složenija unutrašnja struktura, tako da se unutar talusa mogu javiti ćelijski kompleksi (epidermoid) sa specijalizovanom fiziološkom funkcijom (mehanička, zaštitna, provodna, uloga u magacioniranju rezervnih hranljivih supstanci).

1.2. Funkcionalna građa ćelija cijanobakterija i algi

U pogledu građe ćelija algi razlikuju se dva osnovna tipa, prokariotski i eukariotski tip ćelija. Prokariotska ćelija se karakteriše odsustvom organela obavijenih membranom (jedro, plastidi, mitohondrije, Glodžijev aparat, flagele i dr.) i ovaj tip ćelije je karakterističan samo za cijanobakterije (modro-zelene alge). Sve ostale alge imaju eukariotski tip ćelije koji uključuje različite tipove organela koje poseduju sopstvenu membranu.

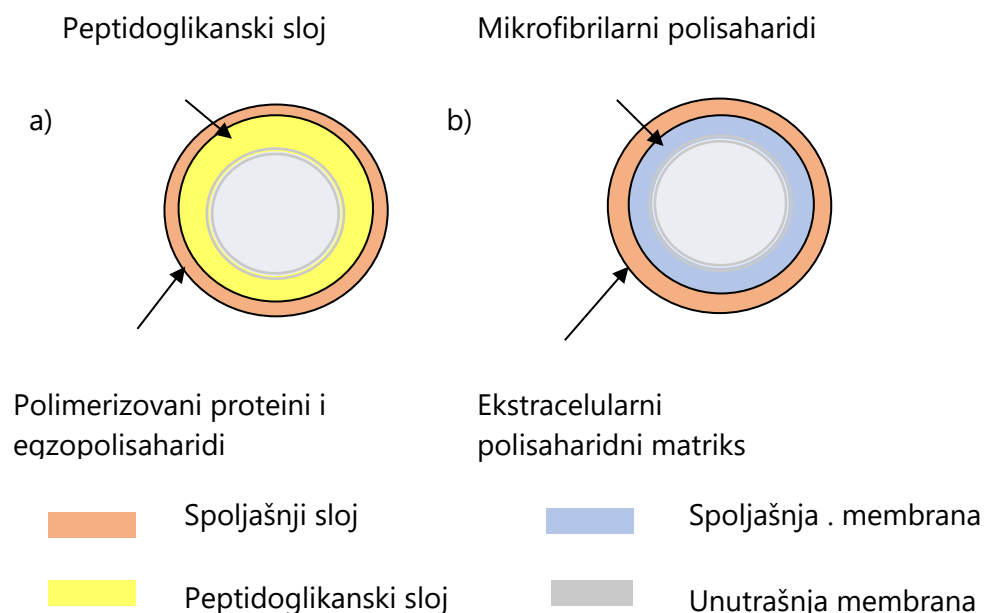
1.2.1. Omotači ćelija algi

Ćelije algi mogu biti bez ćelijskog zida, odnosno gimnoplasi, kada se na površini protoplasta javlja samo tanka membrana plazmalema. Zbog odsustva čvrstog omotača na površini, takve alge mogu menjati oblik ćelije. Postoje i alge kao što su

euglenoidne i neke dinoflagelate kod kojih se na površini ćelije nalazi periplast (pelikula) pretežno izgrađen od proteina i lipida. U zavisnosti od debljine i čvrstine pelikule postoji mogućnost promene oblika ćelije koja se naziva **metabolija**, što je karakteristika onih algi koje imaju tanku i elastičnu pelikulu (rod *Euglena*). Određene alge mogu imati na površini imati čvrst omotač u vidu teke (vatrene alge) ili pancira (silikatne alge). Kod većine algi na površini ćelije se nalazi diferenciran ćelijski zid koji je u najvećem broju slučajeva izgrađen od celuloze i pektina.

Ćelijski zid

Ćelijski zid algi ima višestruku ulogu: zaštitnu, potpurnu dajući čvrstinu i stalan oblik ćeliji i učestvuje u razmeni materija sa spoljašnjom sredinom. Na površini prokariotske ćelije cijanobakterija nalazi se višeslojan ćelijski zid (Slika 2a). Čine ga četiri sloja (L1-L4), od kojih rigidni L2 sloj sadrži murein koji je svojstven i ćelijskom zidu bakterija. Na površini zida nalaze se pore kroz koje se luči sluzni, odnosno galerni omotač, koji se često javlja kod filamentoznih cijanobakterija i ima prevashodno zaštitnu ulogu. Na površini većine eukariotskih algi se nalazi dobro razvijen ćelijski zid izgrađen od polisaharida koji se proizvode aktivnošću Goldžijev aparata (Slika 2b). U osnovi se takav ćelijski zid sastoji iz dve komponente: 1) fibrilarna komponenta koja formira skelet zida i 2) amorfna komponenta koja formira matriks u koji su uronjene fibrilarne komponente.



Slika 2. Građa omotača ćelije algi: a) ćelija cijanobakterije; b) ćelija zelene alge

Najčešći tip fibrilarne komponente u ćelijskom zidu eukariotskih algi je celuloza (polimer β -D-glukoze). Kod nekih predstavnika zelenih algi kao što su sifonalne alge i malog broja crvenih algi, celulozu zamenjuje manan (polimer β -D-manoze).

Amorfna sluzava komponenta je naročito izražena i dobro razvijena kod predstavnika mrkih i crvenih algi, u čijem sastavu dominiraju polisaharidi. Kod mrkih algi zastupljene su alginske kiseline (ili soli alginati) koje predstavljaju polimere izgrađene pretežno od β -1,4 povezanih D- manuronske kiseline i L-guluronske kiseline. Kod crvenih algi amorfna komponenta se sastoji od galaktana ili polimera galaktoze, povezanih β -1,3 i β -1,4 vezama. Najznačajniji galaktani crvenih algi koji su našli široku komercijalnu primenu su agar agar i karageni.

1.2.2. Jedro

Prokariotske Cyanophyta i Prochlorophyta nemaju diferencirano jedro, već kao genetički materijal sadrže kružne bezhistonske molekule DNK koje su nalaze slobodne u centralnom delu citoplazme (centroplazma ili nukleoplazma). Procesi transkripcije i translacije se dešavaju u citoplazmi uz učešće velikog broja sitnih ribozoma prokariotskog tipa 70S. Kod ovih mikroorganizma moguće su i genetske rekombinacije koje se mogu ostvariti procesima transformacije i konjugacije.

Kod eukariotskih algi genetički materijal u formi DNK je zajedno sa elementima kontrole ekspresije genetičke informacije smešten u jedru (genom), mitohondrijama (hondrom) i plastidima (plastom). Hloroplasna i mitohondrijalna DNK su autonomne i njihova ekspresija ima dosta sličnosti sa sistemom genske ekspresije kod prokariota.

U diferenciranom jedru eukariotskih algi dugi, linearni, nerazgranati molekuli DNK su povezani sa proteinima histonima i malom količinom RNK. Utvrđeno je postojanje dve vrste proteina: 1) histoni (oko 20) kao relativno jednoobrazni proteini uključeni u organizaciju molekula DNK i 2) vrlo promenljivi proteini koji učestvuju u regulaciji aktivnosti gena, poput DNK i RNK polimeraza. Kompleks DNK-protein, koji se sastoji od ponavljajućih jedinica, nukleozoma, poznat je pod nazivom hromatin, koji je obično raspršen u interfaznom jedru. Tokom metafaze kompleksi DNK-protein se više spiralno kondenzuju oko nukleozoma formirajući hromosome, pri čemu se svaki sastoji od jednog molekula DNK.

Jedro poseduje dvoslojnu membranu koja ga odvaja od okolne citoplazme. Između dve membrane se nalazi perinuklearni prostor širine oko 20nm. Nuklearni omotač je perforiran brojnim porama (60-100 nm) koje služe kontrolisanom transportu makromolekula (RNK, proteini). Pore mogu biti raspoređene na različite načine: u

vidu pravih linija, u vidu heksagonalnih kompozicija ili mogu biti nasumično raspoređene.

Sva jedra sadrže i **jedarce** (nucleolus) koji se mogu kod različitih grupa algi razlikovati po obliku, veličini i broju. Jedarca su bogata ribonukleoproteinom i u tesnoj su vezi sa specifičnim regionom DNK koji kodira ribozomsku RNK. Mogu biti pojedinačni centralno postavljeni (rod *Cryptomonas*) ili u većem broju rasejani u jedru (rod *Euglena*).

U pogledu složenosti građe jedra postoji nekoliko specifičnih tipova koji su odlika pojedinih grupa algi. Tako se predstavnici vatrenih algi (Dynophyta) odlikuju primitivnim jedrom koje se naziva **dinokarion**. Dinokarion poseduje dvoslojnu perforiranu membranu i veliku količinu DNK (5-10 puta veću od uobičajene za eukariotske alge). Jedro je krupno i može imati sferičan oblik, oblik slova U, V ili Y. Hromozomi u dinokarionu ostaju konstantno u kondenzovanom stanju i vidljivi su pod mikroskopom tokom interfaze i mitoze. Specifična karakteristika ovog jedra je i to što DNK nije povezana sa histonima (nisu prisutni), što je u hromozomima prisutna velika količina kalcijuma i drugih dvovalentnih metala (Fe, Ni, Cu) koji mogu imati ulogu u hromozomskoj organizaciji. Takođe tokom ćelijske deobe i jedarna membrane i jedarce se ne resorbuju. Drugi tip jedra koje se takođe nalazi na nižem stupnju organizacije jeste jedro euglenoidnih algi. U ovom slučaju hromozomi takođe ostaju u kondenzovanom stanju tokom deobe, ali za razliku od dinokariona, sadrže DNK koja je vezane u komplekse sa histonima. Kod Cryptophyta se javlja posebna organela koja se naziva **nukleomorf** i koja je smeštena u prostoru između hloroplasnog endoplazmatskog retikuluma i omotača hloroplasta. Ova organela ima perforiranu dvostruku membranu, sadrži DNK i strukturu sličnu nukleolusu. DNK je organizovana u tri mala hromozoma koji poseduju sposobnost samoreplikacije bez formiranja deobnog vretena tokom mitoze. Smatra se vestigijalnim jedrom koje pripada fotosintetskom eukariotskom simbiontu.

1.2.3. Plastidi

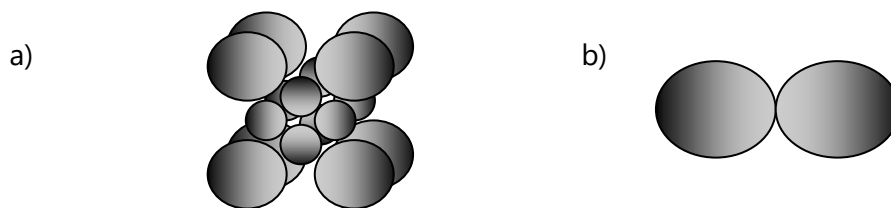
U ćeliji fotoautotrofnih organizama se kao ključna komponenta fotosintetičkog aparata javljaju plastidi kojih ima više različitih vrsta. Za razliku od eukariotskih algi, cijanobakterije u ćelijama ne sadrže hloroplaste. Njihov fotosintetski aparat čine pojedinačni tilakoidi koji su smešteni u perifernom delu citoplazme koja se naziva **hromatoplazma**. Na membrani tilakoida smešteni su fikobilizomi koji sadrže pigmente iz grupe fikobiliproteina. Kod ostalih algi u ćeliji se nalaze kao osnovni tip plastida **hloroplasti**, na nivou kojih se vrši oksigena fotosinteza. **Hromoplast** je sinonim koji se koristi za one plastide koji imaju drugačiju boju od zelene i karakteristika su algi pripadnika grupe Chromophyta (vatrene, žuto-zelene, zlatne,

1. OPŠTE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA I ALGI

silikatne alge). **Proplastid** predstavlja redukovani plastid koji sadrži samo nekoliko tilakoida i iz kojeg se obično razvija hloroplast, mada postoje određene heterotrofne alge koje zadržavaju proplastide u datoj formi. **Leukoplast** (ili amilopalast) je bezbojni plastid u kojima se akumulira rezervna materija.

Na površini hloroplasta nalazi se omotač koji kod predstavnika Chlorophyta i Rhodophyta čine duple membrane. Kod ostalih eukariotskih algi omotač hloroplasta je dodatno obavijen sa jednom ili dve membrane **hloroplasnog endoplazmatskog retikuluma** (hloroplasni ER), koji ima na spoljašnoj strani membrane koja je okrenuta ka citoplazmi zakačene ribozome.

Osnovu strukturu fotosintetičkog aparata hloroplasta čine **tilakoidi** (membranozne, meškolike vezikule) i **matriks ili stroma**. Tilakoidi sadrže fotosintetičke pigmente i predstavljaju mesta fotohemijske reakcije fiksacije ugljen-dioksida. Tilakoidi unutar hloroplasta mogu biti pojedinačni, slobodni, kao što je to slučaj kod crvenih algi kod kojih se na membranama tilakoida javljaju fikobilizomi koji sadrže fikobiliproteinske pigmente. Fikobilizomi cijanobakterija i crvenih algi mogu biti u vidu granula ukoliko dominira crveni pigment fikoeritrin ili u vidu diska ukoliko dominira plavi pigment fikocijanin. Kod svih ostalih algi tilakoidi mogu biti grupisani tako da grade tilakoidne lamele, odnosno grane, pri čemu je broj tilakoida u takvim formacijama različit (2, 3, 6 i više). **Pirenoid** predstavlja specifično diferenciran region unutar hloroplasta ili van njega, koji ima ulogu u nakupljanju rezervne materije. On sadrži ključni enzim **Rubisco** (ribulozo-1,5-bifosfat karboksilaza/oksigenaza) koji je odgovoran za proces fiksacije ugljen-dioksida. Rubisco se kod algi može javiti u dve osnovne forme: forma I se javlja kod cijanobakterija i kod većine eukariotskih algi a sastoji se od 8 krupnih i 8 sitnih subjedinica (Slika 3a); forma II karboksizoma se javlja kod nekih eubakterija i dinoflagelata, a sastoji se od dve krupne subjedinice (Slika 3b).



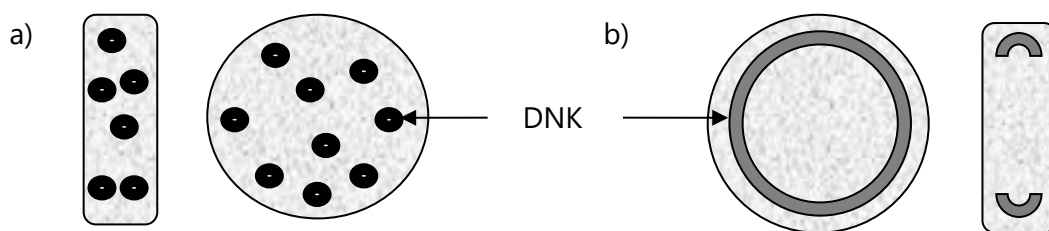
Slika 3. Struktura Rubisco enzima: a) Forma I; b) Forma II

Hloroplasti pojedinih algi mogu da sadrže i sferične lipidne kapljice između tilakoida koje služe kao rezervni pul lipida unutar hloroplasta. Osim toga, kod pokretnih algi se u hloroplasta ili van njega može naći i fotoreptorna organela **stigma** (očna mrlja), koja sadrži gusto pakovane karotenoide. Kod većine pokretnih algi stigma je unutar hloroplasta, dok je kod euglenoidnih i vatrene algi ona van hloroplasta.

1. OPŠTE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Pokretne alge ispoljavaju tri vrste odgovora na svetlosne nadražaje: fototaksis (pozitivna ili negativna), fotofobija (fotošok) i klizanje.

Hloroplasti sadrže i prokaritoski tip ribozama 70 S i molekule DNK bez histona, zakačenog za membranu hloroplasta. Alge se mogu podeliti u dve osnovne grupe u zavisnosti od rasporeda DNK u hloroplastima. Prva grupa (Cryptophyta, Dinophyta, Rhodophyta, Chlorophyta) se karakteriše hloroplastima u kojima su grudvice DNK rasute svuda po stromi (Slika 4a). Kod druge grupe algi (Chrysophyta, Bacillariophyta, Xanthophyta osim roda *Vaucheria*), DNK se javlja u vidu prstena u okviru lamelnarnog pojasa (Slika 4b). Euglenoidne alge ne pripadaju ni jednoj od tih grupa, s obzirom da im je svojstvena promenljiva distribucija hloroplastne DNK.



Slika 4. Šematski prikaz dva tipa distribucije DNK u hloroplastima algi: a) Tip I - disperzni raspored DNK; b) Tip II - DNK u vidu prstena

Alge kao fotoautotrofi sadrže fosintetičke pigmente od kojih su najznačajniji **hlorofili**. Postoji četiri (uslovno pet) tipova hlorofila, a, b, c (c1 i c2) i d. Hlorofil *a* kao primarni fotosintetički pigment, prisutan je kod svih algi, uključujući i cijanobakterije kod kojih je on jedini hlorofil. Ostali hlorofili su različito distribuirani i svaka grupa algi pored hlorofila *a* ima još neki drugi hlorofil u kombinaciji (Tabela 1). Fotosintetički pigmenti algi su organizovani u vidu pigment-protein kompleksa koji se mogu podeliti u dve grupe:

1. fotohemijski reakcioni centar (sadrži hlorofil *a*, svetlosna energija se konvertuje u hemijski)
2. kompleksi za sabiranje svetlosti (služe kao antena pigmenti za prikupljanje i transfer dostupne svetlosne energije ka reakcionom centru)

Kompleksi za sabiranje svetlosti koriste različite antena pigmente za hvatanje svetlosne energije (karotenoide, fikobiliproteine) u zavisnosti od grupe algi.

Karotenoidi su žuti, narandžasti ili crveni pigmenti koji obuhvataju dve velike klase pigmentata: 1) bezkiseonični ugljovodonici - **karoteni** i 2) oksidovani derivati karotena-**ksantofili**. Najznačajniji i najrasprostranjeniji karoten kod algi je β -karoten,

dok se od ksantofila u pigmentnom sastavu mogu javiti fukoksantin, astaksantin, dijatomin, peridinin i brojni drugi.

Tabela 1. Pigmentni sastav različitih grupa algi

Razdeo	Naziv	Osnovni i glavni pomoćni pigmenti
Chlorophyta	Zelene alge	Hlorofil a i b, karotenoidi
Charophyta	Pršljenčice	Hlorofil a i b, karotenoidi
Euglenophyta	Euglenoidne alge	Hlorofil a i b, karotenoidi
Phaeophyta	Mrke alge	Hlorofil a, c1, c2, karoteni i fukoksantin
Xanthophyta	Žuto-zelene alge	Hlorofil a, c1, c2 i karotenoidi
Chrysophyta	Zlatne alge	Hlorofil a, c1, c2, karoteni i fukoksantin
Bacillariophyta	Silikatne alge	Hlorofil a, c1, c2, karoteni i dijatomin
Pyrrophyta	Vatrene alge	Hlorofil a, c, karoteni i peridinin
Cryptophyta	Kriptomonade	Hlorofil a, c2, karotenoidi i fikobilini
Rhodophyta	Crvene alge	Hlorofil a, d, karotenoidi i fikobilini
Cyanophyta	Modro-zelene alge	Hlorofil a, karotenoidi i fikobilini

Kod cijanobakterija, crvenih algi i Cryptophyta se u okviru fotosintetičkog aparata pored karotenoida javljaju i antena pigmenti iz grupe **fikobiliproteina**, koji su smešteni u posebnim sferičnim kompleksima na membranama tilakoida, **fikobilizomima**. Uloga antena pigmentata je izuzetno važna s obzirom na to da imaju sposobnost da apsorbuju svetlost onih talasnih dužina koje hlorofil *a* ne može, doprinoseći tako efikasnijem odvijanju procesa fotosinteze. Fikobiliproteini su u vodi rastvorljivi pigmenti koji se često još nazivaju hromoproteini (obojeni proteini). Najznačajniji među njima su plavi pigmenti, fikocijanin i alfikocijanin i crveni fikoeritrin. Osnovnu subjedinicu fikobilizoma čine aproteini α i β (proteinski deo molekula), od kojih je svaki zakačen za hromofor (tetrapiol fikobilin). Aproteini α i β su organizovani u vidu cilindričnih heksamera. U jezgru fikobilizoma proteini α

α i β su zakačeni za alofikocijanin, koji je samim tim najbliži hlorofilu *a* na koga prenosi apsorbovanu energiju. U spoljašnjem delu fikobilizoma, aproproteini α i β su zakačeni za fikocijanin i/ili fikoeritrin. Zbog specifičnog pigmentnog sastava ove tri grupe algi se odlikuju izraženom **hromatskom adaptacijom**, koja podrazumeva mogućnost promene količine produkovanih pigmenata u zavisnosti od svetlosnih uslova. U ćeliji će se sintetisati ona grupa pigmenata koja ima komplementarnu boju boji svetlosti kojom je osvetljena.

1.2.4. Rezervne materije

Rezervne materije koje se javljaju na nivou ćelija algi se mogu podeliti u dve velike grupe: 1) jedinjenja velike molekulske mase i 2) jedinjenja male molekulske mase. Prvu grupu čine tri velike podgrupe: a) α -1,4 vezani glukani u koje se ubrajaju cijanoficinski skrob (cijanobakterije), floridea skrob (crvene alge), skrob (zelene, euglenoidne alge i pršljenčice); b) β -1,3 vezani glukani: laminarin (mrke alge), hrizolaminarin ili leukozin (zlatne, silikatne, žuto-zelene i vatrene alge), paramilon (euglenoidne i neke žuto-zelene alge); c) fruktozani (*Acetabularia*) inulinu sličan produkti koji se sastoji od serije 1,2 povezanih fruktoznih jedinica koje se završavaju glukoznom grupom. Drugu grupu rezervnih supstanci (mala molekulska masa) čine: a) šećeri (sukroza kod zelenih i euglenoidnih, trehaloza kod cijanobakterija i crvenih algi); b) glikozidi (glicerol glikozidi, floriozidi i izofloridozidi su široko distribuirani u okviru crvenih algi); c) polioli (manitol kod mrkih i crvenih, glicerol koji se javlja kod većine algi).

1.2.5. Mitohondrije, peroksizomi i Goldži kompleks

Mitohondrije su organele karakteristične samo za eukariotske alge čija je osnovna funkcija u procesu respiracije. Imaju omatač u vidu dvostruke membrane, sadrže 70S ribosome i molekul DNK. Kod algi se javljaju dva tipa mitohondrija. Mitohondrije sa ravnim lamelarnim kristama se javljaju kod crvenim, zelenim, euglenoidnih algi i Cryptophyta. Mitohondrije sa tubularnim kristama su zastupljene kod heterokontnih i haptofitnih algi. Glikolat koji se javlja kao glavni supstrat za fotorespiraciju, može biti degradovan aktivnošću glikolat dehidrogenaze u mitohondrijama ili glikolat oksidaze u peroksizomima (pojedinačna telašca u citoplazmi obavijena sopstvenom membranom). Glikolat dehidrogenaza se javlja kod cijanobakterija, cryptophyta, euglenoidnih, silikatnih i zelenih alg, dok je glikolat oksidaza svojstvena za crvene, mrke alge i pršljenčice.

Goldži aparat se sastoji od brojnih membranskih meškolikih vrećica koje se nazivaju cisterne. Osnovna funkcija Goldži aparata se sastoji u produkciji i sekreciji polisaharida.

1.2.6. Vakuole kod algi

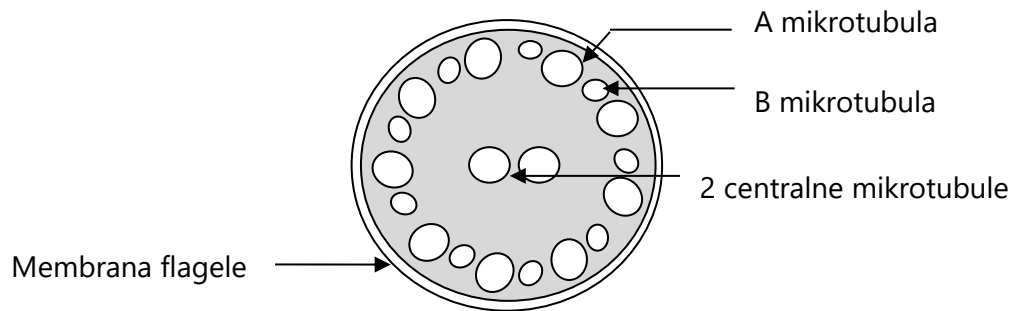
U citoplazmi ćelija eukariotskih algi se mogu naći i vakuole, čiji broj može da varira u zavisnosti od starosti ćelije. Kod aktivno pokretnih predstavnika algi se nalazi poseban tip vakuola koje se nazivaju **kontraktilne (pulsativne) vakuole** čija je osnovna funkcija u osmoregulaciji. Kod prokariotskih cijanobakterija se u citoplazmi nalaze specifični prostori ispunjeni gasom (najčešće azotom) koje se nazivaju **gasne** ili **pseudovakuole**. Predstavljaju adaptaciju na planktonski način života i zahvaljujući njima ćelije mogu lako menjati položaj u vodenoj sredini.

1.2.7. Lokomotorne organele algi

Aktivno pokretne alge poseduju odgovarajuće lokomotorne organele poput **pseudopodija** (rizopodije) i **flagela**. Rizopodije su karakteristika rizopodijalnih algi, a javljaju se kao nestalne strukture na ćeliji koja nema čvrst ćelijski omotač.

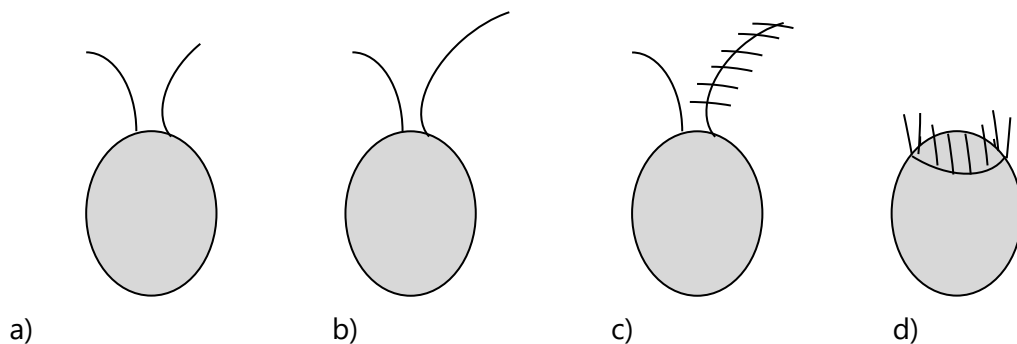
Flagele su organele koje se javljaju kod monadoidnih algi, ali mogu biti karakteristika i određenih ćelija koje služe u reprodukciji kod algi na višem stupnju razvoja. U ćeliji se u osnovi flagele nalazi bazalno telo, a kroz tunel koji se naziva vrat flagele, flagela prolazi ćelijski omotač i izlazi van. Za bazalno telo mogu biti pričvršćeni sistemi mikrotubula i isprepletane fibrilarne strukture, što sve zajedno čini rizoplaste koji odlaze u protoplazmu i orijentisani su ka jedru. Struktura slobodnog dela flagela je veoma složena i nije se mnogo menjala tokom evolucije pokretnih algi. U tipičnom slučaju su građene od jedne aksoneme koja se sastoji od devet parova mikrotubula raspoređenih u perifernom delu i dve centralno postavljene mikrotubule (Slika 5).

Centralni par mikrotubula su pojedinačne i sastoje se od 13 protofilamenata, dok su periferne mikrotubule u paru (A mikrotubula se sastoji od 13 protofilamenata a B mikrotubula od 11 protofilamenata). Mikrotubule aksoneme se sastoje od α i β tubulina. Mikrotubule A sadrže dinein, mehanoenzim koji hidrolizuje ATP obezbeđujući energiju koju dinein koristi za kretanje duž B mikrotubule (B tubula se naziva "pruga" a A tubula "teret"). Takva akcija rezultuje pomeranje parova mikrotubula što dovodi do savijanja flagele. Kinezin proteini sa druge strane dovode do rotacije centralnih mikrotubula unutar aksoneme i doprinose propagaciji flagelnog talasa.



Slika 5. Šematski prikaz građe flagele

Membrana flagele može biti gola bez izraštaja na svojoj površini (akronematična flagela) ili može imati dlakolike izraštaje u vidu **mastigonema** (pantonematična flagela). S obzirom na izgled, dužinu i građu postoje nekoliko osnovnih tipova flagela kod algi: izokonte, anizokonte, heterokonte, stefanokonte (Slika 6). Za većinu grupa algi je karakteristično da se kod pokretnih oblika javljaju anizokonte ili heterokonte (razdeli *Dynophyta*, *Xanthophyta*, *Chrisophyta*), dok se kod manjeg broja javljaju izokonte (razdeo *Chlorophyta*).



Slika 6. Šematski prikaz tipova bičeva kod algi: a) izokonte; b) anizokonte; c) heterokonte; d) stefanokonte

1.3. Razmnožavanje algi

Alge se mogu razmnožavati vegetativno, bespolno (sporulativno) i polno. Vegetativno razmnožavanje se ostvaruje u zavisnosti od morfološke organizacije talusa, deobom ćelije, fragmentacijom, puzećim kauloidima, krtolicama (samo kod pršljenčica).

Bespolno razmnožavanje podrazumeva obrazovanje bespolnih spora koje mogu biti **pokretne** (zoospore) i **nepokretne** (aplanospore, autospore, monospore,

1. OPŠTE KARAKTERISTIKE CIJANOBAKTERIJA I ALGI

tetraspore, endospore, egzospore). Većina bespolnih spora se obrazuje u posebno diferenciranim ćelijama koje se nazivaju sporangije, međutim kod nekih predstavnika one se mogu obrazovati u vegetativnim ćelijama. Endospore i egzospore su karakteristične za cijanobakterija pri čemu prve nastaju unutar ćelije (beocite), a druge nastaju kao izraštaji na površini ćelije.

Polno razmnožavanje podrazumeva obrazovanje polnih ćelija, haploidnih gameta u posebno diferenciranim gametangijama. Kao rezultat spajanja (singamije) nastaje diploidan zigot koji može odmah da klija u novu jedinku ili nakon perioda mirovanja. U zavisnosti od tipa gameta koji učestvuju u polnom procesu razlikuju se **hologamija, izogamija, heterogamija (anizogamija), oogamija i konjugacija**. Hologamija je zastupljena kod primitivnijih algi i podrazumeva proces spajanja sadržaja dve aktivno pokretne jedinke. Pri izogamiji dolazi do spajanja dva morfološki ista, ali fiziološki različita gameta (izogameti). Konjugacija je proces pri kojem se spajaju dva morfološki ista gameta koja nemaju sposobnost aktivnog kretanja, a koji su nastali od čitavih protoplasta ćelija. U procesu heterogamije učestvuju dva morfološki različita gameta, jedan krupniji koji je obično nepokretan makrogamet (ženski) i jedan sitniji obično pokretan mikrogamet (muški). Za proces oogamije je karakteristično formiranje ženskog nepokretnog gameta jajne ćelije i muškog pokretnog gameta spermatozoida. Jajne ćelije se obrazuju u oogonijama, iako postoje i izuzeci kao što su crvene alge kod kojih se jajna ćelija formira u ženskom reproduktivnom organu karpogonu. Spermatozoidi nastaju u anteridijama i pokretni su, sa izuzetkom crvenih algi kod kojih se u anteridijama formiraju nepokretni muški gameti spermacije. Ukoliko se muški i ženski reproduktivni ograni, odnosno gameti nalaze na istim individuama onda su one jednodome (monecke), a ukoliko su na različitim individuama onda su one dvodome (diecke) vrste. Postoje i takve alge koje mogu da se razmnožavaju autogamijom, što podrazumeva da se spajaju gameti nastali u jednoj istoj individui.

U toku individualnog razvića algi za koje je svojstvena polna reprodukcija, pravilno se smenjuju haploidna i diploidna faza što se naziva smena jedrovih faza. Prelaz iz diploidne u haploidnu fazu se dešava tokom mejotičke deobe, a iz haploidne u diploidnu pri oplodjenju. U osnovi postoje tri tipa smene jedrovih faza u zavisnosti od toga kada se i gde dešavaju singamija i mejoza: **haplontska ili zigotska** (mejoza u zigotu, talus alge haplont - n) (primer je rod *Chlamydomonas*), **diplontska ili gametska** (mejoza pri formiranju gameta, talus alge diplont- $2n$) (primer je rod *Fucus*) i **haplodiplontska ili intermedijarna smena** (mejoza pri formiranju bespolnih spora na sporofitu koji je $2n$, iz bespolnih spora se razvijaju haploidni gametofiti na kojima se formiraju haploidni gameti koji kopuliraju dajući $2n$ zigot iz kojeg se razvija $2n$ sporofit) (*Cladophora*). Ukoliko su sporofit i gametofit morfološki

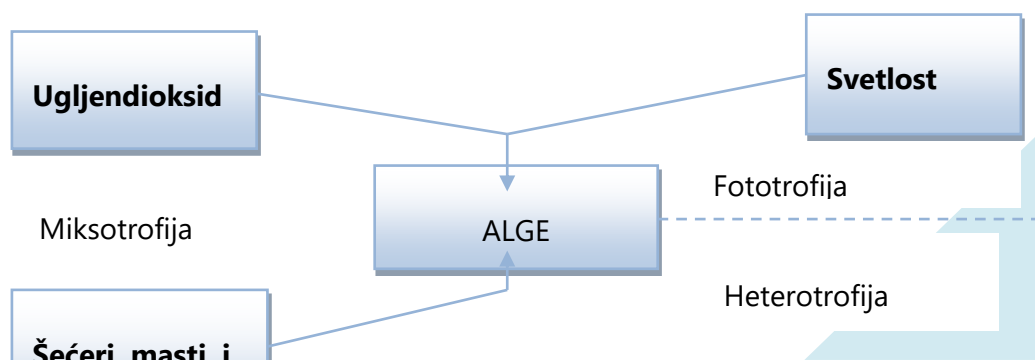
isti ili slični onda se takav ciklus naziva izomorfna smena "generacija" (rod Ulva), a ukoliko se razlikuju reč je o heteromorfnoj smeni "generacija" (rod Laminaria).

1.4. Ishrana algi

Alge mogu na različite načine obezbediti energiju neophodnu za odvijanje životnih procesa. Mnoge od njih koriste samo jedan određeni tip rasta (obligatnu foto ili heterotrofiju). Većina algi su fotoautotrofi, međutim pored toga mnoge mogu da koriste kompleksan spektar nutritivnih strategija, kombinujući fotoautotrofiju sa heterotrofijom u jednom hibridnom modelu ishrane koji se naziva **miksotrofna ishrana** (Šema 1). Postoje i malobrojni predstavnici algi koji ne poseduju hlorofil i koji se hrane heterotrofno pri čemu je takav vid ishrane kod njih naknadno stečeno, sekundarno svojstvo.

U pogledu načina ishrane alge se mogu podeliti u četiri osnovne grupe:

1. **Obligatno fototrofne alge:** Primarni način ishrane im je fototrofija bez koje ne mogu funkcionisati, ali mogu u nepovoljnim svetlosnim uslovima ishranu dopuniti fagotrofijom i/ili osmotrofijom (npr. *Dinobryon divergens*, Heterokontophyta).
2. **Obligatno heterotrofne alge:** Primarno su heterotrofne i koriste organsku materiju kao glavni izvor ugljenika, ne vrše proces fotosinteze (npr. *Peranema*, Euglenophyta).
3. **Fakultativno fototrofne/heterotrofne:** Mogu podjednako dobro rasti kao fototrofi i kao heterotrofi, odnosno mogu u zavisnosti od potreba i dostupnosti nutrijenata preći sa jednog na drugi tip ishrane, ali generalno uvek bolje rastu na jednom od ta dva tipa (npr. *Fragilidium subglobosum*, Dinophyta).
4. **Obligatne miksotrofne alge:** Primarni način ishrane im je fototrofija uz obavezne korišćenje organskog izvora ugljenika (procesima fagotrofije i/ili osmotrofije) čime obezbeđuju supstance neophodne za rast (fotoauksotrofne alge) (npr. *Euglena gracilis*, Euglenophyta).



Šema 1. Šematski prikaz tipova ishrane različitih grupa algi

Pored toga što su sposobne da koriste ugljenik iz različitih neorganskih i organskih supstrata, alge, a posebno cijanobakterije, su razvile i sposobnost korišćenja azota iz pojedinih organskih izvora (aminokiseline, amidi i dr.). Takođe, brojne cijanobakterije su kao dijazotrofi sposobne da vrše i proces azotofiksacije tokom kojeg vezuju elementarni azot i prevode ga u azotna jedinjenja.

Zahvaljujući ovako raznovrsnim načinima ishrane i razvijenim nutritivnih strategijama, alge i cijanobakterije su sposobne da se lako prilagode promenama u životnoj sredini, što im daje mogućnost širokog rasprostranjenja i naseljavanja različitih ekoloških niša.

Prema morfološkoj složenosti i građi, talusi algi mogu biti jednoćelijski, kolonijski, kapsalni, sifonalni i višećelijski. U pogledu građe ćelija razlikuju se dva osnovna tipa, prokariotski i eukariotski tip ćelija. Prokariotska ćelija se karakteriše odsustvom organela obavijenih membranom i ovaj tip ćelije je karakterističan samo za cijanobakterije (modro-zelene alge). Ćelije algi mogu biti gimnoplasi ili imati omotač u vidu periplasta ili pelikule, teke, silikatnog pancira i ćelijskog zida. Alge kao fotoautotrofi sadrže fotosintetičke pigmente od kojih su najznačajniji hlorofili. Postoje četiri (uslovno pet) tipa hlorofila, a, b, c (c1 i c2) i d. Hlorofil a kao primarni fotosintetički pigment, prisutan je kod svih algi, uključujući i cijanobakterije kod kojih je on jedini hlorofil. Uz glavne pigmente uvek su prisutni i drugi pigmenti iz grupe karotenoida, a kod cijanobakterija, crvenih algi i kriptomonada prisutni su i fikobilini. Rezervne materije algi podrazumevaju dve grupe jedinjenja: 1) jedinjenja velike molekulske mase i 2) jedinjenja male molekulske mase. Pokretljivost algi se ostvaruje prisustvom rizopodija ili bičeva koji mogu biti iste (izokonte) ili različite dužine (anizokonte) i građe (heterokonte). Cijanobakterije i crvene alge nemaju pokretnih stadijuma u životnom ciklusu.

Alge se mogu razmnožavati vegetativno (deoba, fragmentacija i dr.), bespolno (sporama) i polno (hologamija, izogamija, heterogamija, oogamija,

konjugacija, autogamija). U pogledu ishrane alge mogu biti obligatno fototrofne, obligatno heterotrofne, fakultativno fototrofne/heterotrofne i obligatno miksotrofne.

Literatura:

1. Barsanti Laura and Gualtieri Paolo (2006): Algae – Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. CRC Press Taylor and Francis Group, ISBN 10 0-8493-1467-4, str. 301.
2. Blaženčić J. (2007): Sistematika algi. VI izdanje, NNK International Beograd, ISBN: 978-86-83635-67-2, str. 298.
3. Robert Edward Lee (2008): Phycology, Cambridge University Press, UK, ISBN-13 978-0-511-38669-5, str.547.
4. Dinabandhu Sahoo and Pooja Baweja (2015): General Characteristics of Algae In book: The Algae World (pp.3-29). DOI:10.1007/978-94-017-7321-8_1.

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Sistematske grupe i kategorije su raspoređene u hijerarhijski sistem koji se pre svega zasniva na sličnostima između organizama. S obzirom na to da su alge veoma heterogena grupa, ne postoji jedinstven i sveobuhvatan sistem njihove klasifikacije. Standardni sistem botaničke klasifikacije koji se koristi za alge, podrazumeva osnovne taksonomske kategorije prikazane u Tabeli 2.

Tabela 2. Osnovne taksonomske kategorije algi

Taksonomska kategorija	Formiranje naziva	Primer hijerarhijskog niza algi
Regnum (carstvo)		Vegetabilia
Subregnum (podcarstvo)	-bionta	Phyconbionta
Phylum (razdeo)	-phyta	Chlorophyta
Classis (klasa)	-phyceae	Conjugatophyceae
Ordo (red)	-ales	Zygnematales
Familia (familija)	-aceae	Zygnemataceae
Genus (rod)		Zygnema
Species (vrsta)		<i>Zygnema stellium</i>

Molekularne metode, kao što je sekvenciranje gena (5S, 18S, 28S, 16S rRNK), poslednjih godina su postale važan deo u fikološkoj sistematici pružajući nove značajne informacije o filogenetskim vezama između algi. Međutim, sistematika i taksonomija algi su pre svega i dalje bazirane na osnovnim morfološkim, biohemijskim i ekološkim kriterijumima.

Jedna od takvih klasifikacija je klasifikacija algi koja se vrši prema osnovnim strukturnim elementima ćelije prema kojoj se alge dele u 4 različite grupe (Lee, 2008):

1. Prokariotske alge u koje spadaju samo cijanobakterije (modro-zelene alge)
2. Eukariotske alge koje oko hloroplasta imaju omotač od dve membrane
3. Eukariotske alge kod kojih je hloroplast obavijen i jednom membranom hloroplastnog endoplazmatskog retikuluma
4. Eukariotske alge kod kojih je hloroplast obavijen sa dve membrane hloroplastnog endoplazmatskog retikuluma

Prva grupa algi kao što je gore već pomenuto obuhvata samo modro-zelene alge ili cijanobakterije.

Druga grupa obuhvata tri razdela Glaucophyta, Rhodophyta i Chlorophyta (u koje se ubrajaju i Charophyceae).

U treću grupu se ubrajaju takođe tri razdela algi: Euglenophyta, Dinophyta i Apicomplexa.

Četvrta grupa obuhvata Cryptophyta, Prymnesiophyta i Heterokontophyta (u koje spadaju Chrysophyceae, Sinurophyceae, Eustigmatophyceae, Pinguiphyceae, Dictyochophyceae, Pelagophyceae, Bolidophyceae, Bacillariophyceae, Raphidophyceae, Xanthophyceae, Pheophamniophyceae, Phaeophyceae).

Međutim, jednostavnija klasifikacija algi prema Blaženčić (2007) koja se bazira na morfološkim i strukturnim karakteristikama talusa, pigmentnom sastavu, građi fotosintetskog aparata i načinu razmnožavanja podrazumeva deset razdela algi: modrozeleno (Cyanophyta), crveno (Rhodophyta), vatreno (Pyrrophyta), žutozeleno (Xanthophyta), zlatno (Chrysophyta), silikatno (Bacillariophyta), euglenoidno (Euglenophyta), zeleno (Chlorophyta), mrko (Phaeophyta) i pršljenčice (Charophyta).

U nastavku će biti dat kratak pregled svake od navedenih grupa algi.

2.1. Razdeo Cyanobacteria (cijanobakterije, modro-zelene alge)

Cijanobakterije (modro-zelene alge) predstavljaju vrlo raznovrsnu grupu prokariotskih fotosintetskih mikroorganizama čija se starost procenjuje na oko 2,5-2,8 milijardi godina. Poznate su pod brojnim nazivima kao što su *Cyanobacteria*, *Cyanophyta*, *Chloroxybacteria*, *Oxyphotobacteria*, *Cyanobacteriophyta*, *Cyanoprocaryota*, *Cyanohloronta*, *Myxophyceae*.

Cijanobakterije kao prokarioti nemaju diferencirano jedro, nemaju većinu organela koje su karakteristične za eukariotske alge, u sastavu DNK nemaju histone, ribozomi su prokariotskog tipa 70 S, dok struktura ćelijskog zida ovih organizama odgovara strukturi ćelijskog zida Gram negativnih bakterija. Nemaju pokretnih stadijuma u ciklusu razvika i ne razmnožavaju se polno. Na osnovu svih tih, taksonomski važnih svojstava, cijanobakterije su svrstane u 10. grupu razdela *Eubacteria*.

U pogledu morfološke organizacije talusa među cijanobakterijama nalaze se **jednoćelijski, kolonijski i trihalni** predstavnici. Trihalne cijanobakterije mogu imati razvijenu sluznu saru, što sve zajedno čini filament. Filamentozne cijanobakterije najčešće su negranate, dok se kod onih koje se granaju češće javlja lažno u odnosu na pravo grananje talusa. U sastavu talusa se mogu naći tipične **vegetativne ćelije** i specijalizovane ćelije kao što su **heterociste, akineti** i **ćelije hormogonija**.

2. SISTEMATIKA CIJANOBakterija I ALGI

Prokariotski tip ćelije cijanobakterija odlikuje se odsustvom pravog jedra (nema jedarne membrane), jedarceta i organela svojstvenih eukariotskim algama. Osnovni delovi ćelije su višeslojan **ćelijski zid** prokariotske građe i nevakulizirani **protoplast** koji se diferencira na **hromatoplazmu** i **centroplazmu** (nukleoplazmu). U hromatoplazmi je smešten fotosintetički aparat koji čine pojedinačni tilakoidi sa pigmentima (**hlorofil a**, **karotenoidi**), pri čemu se na membranama tilakoida u fikobilizomima nalaze specifični pigmenti **fikobilini**. Poznato je i nekoliko rodova kao što je Prochloron koji osim hlorofila *a* u pigmentnom sastavu sadrže i hlorofil *b*, a ne sadrže fikobiline. U centroplazmi ćelije cijanobakterija je smešten genetski materijal u formi nehistskih molekula DNK. U procitoplazmi se nalaze još i ribozomi prokariotskog tipa 70 S, rezervne supstance (cijanoficinska zrnca, volutinska zrnca, glikogenska zrna, polihidroksibutirat) i gasne vakuole (pseudovakuole). Osim vegetativnih ćelija kod određene grupe cijanobakterija (klasa Hormogoniophyceae) javljaju se i specijalizovane ćelije kao što su **akineti** i **heterociste**. Akineti su krupne ćelije koje imaju kontinuirane debele zidove, bogat sadržaj rezervne materije i veliku količinu genetičkog materijala. Osnovna uloga im je u preživljavanju nepovoljnih uslova spoljašnje sredine. Heterociste su ćelije koje imaju homogen sadržaj bez rezervne materije i pseudovakuola i čija je osnovna uloga u procesu fiksiranja elementarnog azota (azotofiksacija) koji se odvija uz učešće enzima nitrogenaze.

U okviru razdela cijanobakterija zastupljeno je vegetativno i bespolno razmnožavanje dok polni proces nije poznat. Jednoćelijski i kolonijski predstavnici razmnožavaju se prostom ćelijskom deobom, filamentozne cijanobakterije se razmnožavaju hormogonijama (kratkim pokretnim delovima filamenta) i hormocistama, dok se neke vrste končastih cijanobakterija razmnožavaju jednoćelijskim fragmentima - gonidijama, planokokama i kokama. Bespolna reprodukcija se ostvaruje endosporama (beocite) i egzosporama i svojstvena je samo jednoj klasi, Chamesiphonophyceae.

Cijanobakterija se karakterišu različitim načinima ishrane, tako da se kod njih osim fotoautotrofije javljaju i drugi tipovi kao što su fotoheterotrofni, autoheterotrofni, heteroautotrofni i heterotrofni. Organizmi sa mešovitim načinom ishrane (autotrofija i heterotrofija) se označavaju kao **miksotrofi**. Veliki broj vrsta, pretežno heterocitnih cijanobakterija, pripada dijazotrofima, odnosno mogu da vrše fiksaciju atmosferskog azota na nivou heterocista u procesu koji se naziva **azotofiksacija** - **azotofiksatori**. Zbog takvog svojstva cijanobakterije su našle značajnu primenu u poljoprivredi.

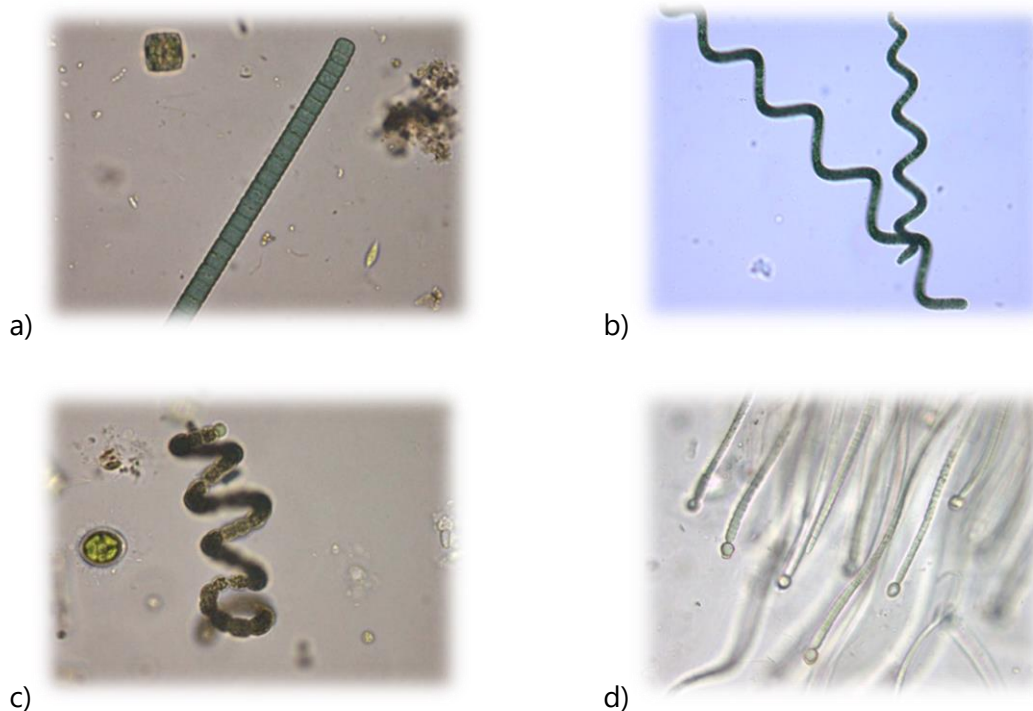
U pogledu ekološke distribucije cijanobakterije su kosmopolitski organizmi i nalazimo ih na svim osvetljenim i vlažnim mestima. Posebno su česte u slatkim i marinskim ekosistemima. Postoji aproksimativna procena da broj ćelija

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

cijanobakterija u okeanima iznosi 10^{24} što je za dva reda veličine više od broja zvezda na nebu. Među cijanobakterijama postoje i brojni ekstremofili koji naseljavaju staništa poput pustinja, pećina, snega, leda, gežira, vulkanskog tla i dr.

Cijanobakterije u vodenim sredinama mogu u posebnim uslovima da proliferiraju tako da izazovu "cvetanje vode". Brojne takve vrste su poznate i po produkciji toksičnih jedinjenja, **cijanotoksina** koji ispoljavaju negativan efekat na zdravlje ljudi i životinja.

Cijanobakterije obuhvataju tri klase: 1. Chroococrophyceae, Chamaesiphonophyceae i Hormogoniophyceae. Najznačajniji rodovi su: *Microcystis*, *Oscillatoria* (Slika 7a), *Spirulina* (*Arthrospira*) (Slika 7b), *Lyngbya*, *Anabaena* (Slika 7c), *Nostoc*, *Aphanizomenon*, *Cyldrospormopsis*, *Tolypothrix*, *Rivularia* (Slika 7d), *Scytonema*, *Stigonema*.



Slika 7. Reprezentativni rodovi cijanobakterija: a) *Oscillatoria*; b) *Spirulina*; c) *Anabaena*; d) *Rivularia* (foto Simeunović)

2.2. Razdeo Rhodophyta (crvene alge)

Razdeo Rodophyta obuhvata marinske bentosne i retke slatkovodne alge čija se starost procenjuje na oko 2 milijarde godina. Ova grupa algi se odlikuje odsustvom pokretnih stadijuma u ciklusu razvića što se smatra primitivnom karakteristikom, iako se radi o algama koje imaju vrlo složenu građu talusa i ciklus razvića. Većina crvenih

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

algi ima višećelijski talus složene građe (trihalni, heterotrihalni, pseudoparenhimatični i parenhimatični), dok mali broj odlikuje jednoćelijski ili kolonijski tip talusa. Rast višećelijskih talusa se može ostvariti difuzno (deobom svih ćelija talusa-klasa Bangiophyceae) ili apikalno (deobom vršne meristemske ćelije - klasa Florideophyceae).

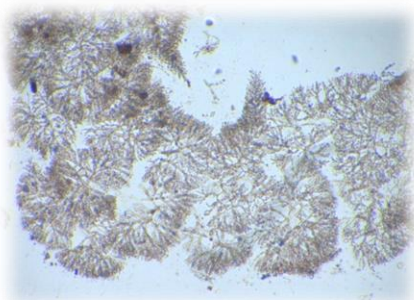
Na površini ćelije crvenih algi nalazi se tanak **ćelijski zid** celulozno-pektinske prirode koji je kod mnogih predstavnika kalcifikovan dajući specifičnu genikulatnu formu talusa kao što je to slučaj sa rodnom Corallina. U sastavu ćelijskog zida crvenih algi nalaze se i polisaharidi kao što su agar agar, karagenani i gelani. U **citoplazmi** koja se nalazi uz ćelijski zid, su smešteni jedno ili veći broj jedara, krupna vakuola i hromatofori **rodoplasti** različitog oblika. Rodoplasti su jednostavne građe, sa dvoslojnom membranom na površini i pojedinačnim tilakoidima u stromi. U membrani tilakoida se nalaze **hlorofili a i d**, karotenoidi, dok su **fikobilinski pigmenti** smešteni u fikobilizomima na površini tilakoida. Kao produkt fotosinteze kod crvenih algi javlja se ugljeni hidrat **floridea skrob** koji je lociran u citoplazmi. Specifična odlika nekih crvenih algi su **žlezdane** (mehuraste) ćelije za koje se smatra da imaju ulogu u magacioniranju rezervnih supstanci, ili da predstavljaju nepotpuno razvijene sporangije ili da služe kao mehuri za plivanje. Kod mnogih predstavnika na višem nivou organizacije na talusu se javljaju dlake. U talusu crvenih algi na višem stupnju razvoja (klasa Florideophyceae) se komunikacija između ćelija ostvaruju kroz **pore** (primarne i sekundarne).

Crvene alge se razmnožavaju složenim i raznovrsnim načinima u zavisnosti od tipa talusa: **vegetativno** (deoba, delovima talusa), **bespolno** (monospore, tetraspore, bispore, polispore) i **polno** (atipična oogamija u kojoj učestvuje nepokretan muški gamet –**spermacija** nastao u anteridiji i ženski nepokretan gamet - jajna ćelija koja nastaje u ženskom reproduktivnom organu **karpogonu**). Karpogon se zavija na talusu na posebnoj grupaciji ćelija koja se naziva **karpogonska grana**. Glavna karakteristika razvojnog ciklusa crvenih algi je postojanje specifične faze u ciklusu razvića, **karposporofita**, koga čine sporogeni konci sa karposporama iz kojih se razvijaju sporofiti.

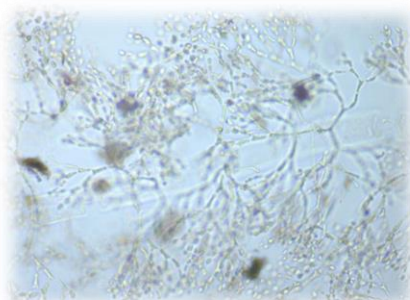
Crvene alge su široko rasprostranjene u obalskom području marinskih ekosistema, ali najveću brojnost dostižu u tropskim morima. Značaj crvenih algi je višestruk, pri čemu su posebno poznate po produkciji polisaharida (**fikokoloidi**) kao što su agar-agar, karageni, gelani i agaroid, koji su našli široku biotehnološku primenu.

Razdeo crvenih algi obuhvata dve klase: 1. Bangiophyceae i 2. Florideophyceae.

Najznačajniji predstavnici su rodovi *Porphyra*, *Bangia*, *Nemalion*, *Batrachospermum* (Slika 8a), *Corallina*, *Gracilaria*, *Palmaria*, *Anthithamnion*, *Ceramium*.



a)



b)

Slika 8. Reprezentativni rod crvenih algi: a) *Batrachospermum*-jednoosovinski razgranat talus; b) *Batrachospermum* - grane (asimilatori) (foto Simeunović)

2.3. Razdeo Pyrrophyta (vatrene alge)

U okviru razdela Pyrrophyta nalaze se najčešće jednoćelijski monadoidni, dok su kokoidni i trihalni predstavnici retki. Talus je **dorzi-ventralne građe** (razlikuju se trbušna, leđna i bočna strana ćelije). Na telu ovih algi prisutne su jedna ili dve **brazde**, pri čemu ukoliko je prisutna jedna onda je to uzdužna, a ukoliko su prisutne dve jedna je poprečna (**ekvatorijalna**) dok je druga uzdužna (**longitudinalna**) i ona je uvek na trbušnoj strani tela. Lokomocija se ostvaruje bičevima kojih ima dva i koji su različite dužine, građe i funkcije (heterokonte). Bičevi su apikalno umetnuti (dezmokontni tip) ili izlaze iz regiona blizu srednje tačke ventralne strane ćelije (dinokontni tip).

Primitivni predstavnici su **gimnoplasi** ili na površini tela imaju **pelikulu**, dok se kod onih na višem stupnju organizacije nalazi **ćelijski zid** u vidu čvrstog **celuloznog pancira**. Celulozni pancir je građen od poligonalnih pločica pri čemu broj i raspored pločica (**tabulacija**) predstavlja važan taksonomski karakter ove grupe algi. U protoplastu ćelija vatrenih algi nalaze se jedno primitivno jedro sa hromozomima koji su stalno kondenzovani i bez histona (**dinokarion**), krupna vakuola centralno postavljena, hromatofori sa troslojnom membranom i pigmentima (hlorofil *a* i *c*, karotenoidi). Specifični su pigmenti iz grupe ksantofila **peridinin**, **dinoksantin** i **dijadinoksantin**. Kod nekih predstavnika (klasa Cryptophyceae u nekim klasifikacionim šemama u status razdela Cryptophyta) se od pigmenata susreću i pigmenti grupe fikobilina, fikocijanin i fikoeritrin. U ćelijama vatrenih algi nalaze se i specifične strukture **trihociste** (žarne ćelije, edžektozomi) koji se poput projektila izbacuju iz ćelije služeći u napadu i odbrani.

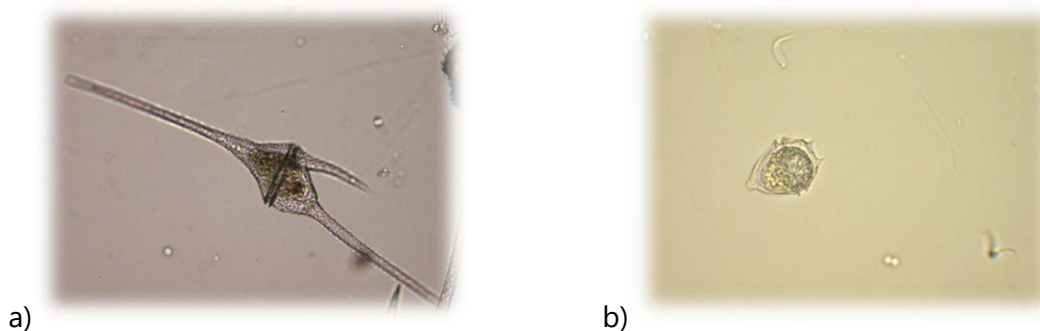
2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Predstavnici ovog razdela su autotrofni i miksotrofni organizmi i u njihovom telu se kao rezervne supstance obrazuju skrob i ulje. Neki predstavnici imaju miksotrofni, saprofitski i parazitski tip ishrane. Neki od njih obrazuju karakteristične citoplazmatske tvorevine (palium i pedunkul) koji imaju funkciju u heterotrofnoj ishrani.

Razmnožavanje je najčešće vegetativno uzdužnom deobom. Bespolno razmnožavanje ostvaruje se zoosporama (heterokonte) i aplanosporama, dok je polni proces otkriven samo kod nekih rodova poput roda *Ceratium* i odvija se po tipu anizogamije.

Rasprostranjene su u slatkim i slanim vodenim ekosistemima gde su među najvažnijim primarnim producentima organske materije čineći važnu komponentu mikroplanktona. Osim toga u vodi, naročito marinskim ekosistemima, mogu da se prenamnože izazivajući tkz. crvenu plimu i mnoge vrste mogu proizvoditi toksične supstance sa negativnim efektom na vodene organizme. Takođe, postoje i brojni predstavnici poput roda *Noctiluca* koji se odlikuju svojstvom bioluminescencije koja se javlja zahvaljujući aktivnosti enzima luciferazi.

Razdeo Pyrrophyta obuhvata tri klase: 1. Cryptophyceae, 2. Chloromonadophyceae i 3. Dynophyceae. Reprezentativni rodovi su: *Rhodomonas*, *Ceratium* (Slika 9a), *Peridinium* (Slika 9b), *Gymnodinium*, *Noctiluca*, *Aleksandrium*, *Goniulax*.



Slika 9. Reprezentativni rodovi vatrenih algi: a) *Ceratium*; b) *Peridinium* (foto Simeunović)

2.4. Razdeo Xanthophyta (žuto-zelene alge)

Alge ovog razdela se po drugim klasifikacionim šemama (Pascher) svrstane u razdeo Heterokontophyta, zajedno sa zlatnim i mrkim algama, a po novijoj šemi u razdeo

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Ochrophyta. Talusi ovih alge se nalaze na jednoćelijskom, kolonijalnom, sifonalnom i končastom stupnju morfološke organizacije. Sifonalni talusi su različitog oblika i višejedarni su (cenocite) što ukazuje na **cenocitičnu građu**.

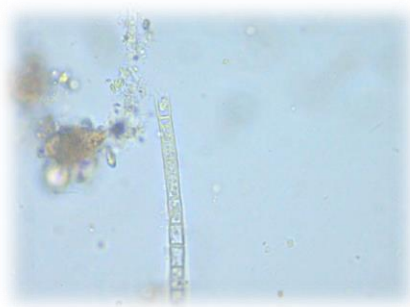
Aktivno pokretni oblici ovog razdela imaju **bičeve**, najčešće po dva biča nejednake dužine i građe (heterokonte). Na površini tela najprimitivnijih predstavnika, rizopodijalnih oblika, nalazi se **periplast**, dok se kod većine algi ovog razdela nalazi izdiferenciran celulozno-pektinski **ćelijski zid** koji može biti jednodelan ili dvodelan. U citoplazmi se nalazi jedno ili veći broj jedara, hromatofori (pločastog ili sočivastog oblika), vakuola centralnog položaja i rezervne supstance. Dominaciju u pigmentnom sastavu imaju karotenoidni pigmenti posebno ksantofili, uslovljavajući karakterističnu žuto-zelenu boju talusa ovih algi. Od pigmenata sadrže hlorofil *a*, *c1*, *c2*, β - karoten i kod nekih heteroksantin i vošeriaksantin. Hromatofori su obavijeni troslojnom membranom, dok su unutar njih lamele građene od tilakoida grupisanih po tri oko kojih se nalazi i jedan periferni tilakoid. Kao rezervna materija u hromatoforima se nakuplja polisaharid hrizolaminarin, volutin i ulja. Stigma je prisutna kod pokretnih oblika i nalazi se u okviru hloroplasta, a zajedno sa fotoreceptornim bazalnim telom glatkog biča čini fotoreceptorni aparat.

Razmnožavaju se vegetativno (deoba, fragmentacija), bespolno (zoospore, aplanospore) i samo pojedini rodovi polno (Botrydium - izogamija, Vaucheria – oogamija). U nepovoljnim uslovima pojedine žuto-zelene alge mogu obrazovati ciste koje se odlikuju čvrstim dvodelnim ćelijskim zidom. Predstavnici ovog razdela naseljavaju pretežno slatke vode, a u manjem broju ih ima i u marinskim ekosistemima.

Razdeo Xanthophyta obuhvata šest klasa: 1. Xanthomonadophyceae, 2. Xanthopodophyceae, 3. Xanthocapsophyceae, 4. Xanthococcophyceae, 5. Xanthotrichophyceae, 6. Xanthosiphonophyceae. Reprezentativni rodovi ovog razdela su: *Chloramaeba*, *Stipitococcus*, *Centrtractus*, *Tribonema* (Slika 10b), *Vaucheria* (Slika 10a), *Botrydium*.



a)



b)

Slika 10. Reprezentativni rodovi žuto-zelenih algi: a) *Vaucheria*; b) *Tribonema* (foto Simeunović)

2.5. Razdeo Chrysophyta (zlatne alge)

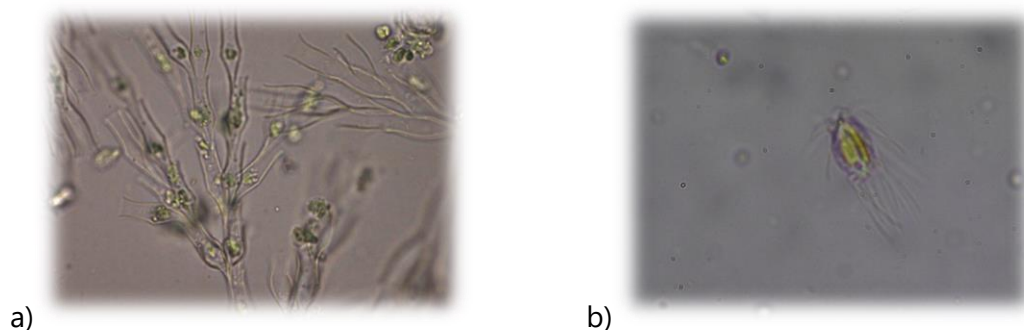
Razdeo Chrysophyta obuhvata jednoćelijske (kokoidne, rizopodijalne i monadne), kolonijske i višćelijske trihalne i heterotrihalne alge.

Najprimitivniji predstavnici su **gimnoplasti** kod kojih se na površini tela nalazi periplast koji dozvoljava promenu oblika tela. Drugi predstavnici imaju diferenciran čvrst **celulozni zid** koji kod nekih može biti kalcifikovan tako da se na površini ćelije obrazuju specifične strukture (kokoliti), dok se kod drugih unutar ćelije obrazuje unutrašnji silikatni skelet. Kod složenijih zlatnih algi oko ćelije se nalazi **pancir** ili **kućica**. U citoplazmi zlatnih algi nalaze se jedro, hromatofori i kod nekih pulsativne vakuole i stigma. U hromatoforima su prisutni pigmenti hlorofil *a* i *c*, karoteni i ksantofili od kojih su posebno značajni fukoksantin i violaksantin. Ishrana je najčešće fototrofna i miksotrofna. Rezervnu hranljivu materiju čine hrizolaminarin i ulja. Značajna karakteristika zlatnih algi jeste endogeno obrazovanje cisti koje nose naziv statospore (stomatociste).

Većina pokretnih oblika ima dva biča najčešće različite građe i dužine, dok se kod nekih primitivnih predstavnika obrazuju pseudopodije koje služe kretanju. Pored bičeva pojedine zlatne alge se odlukuju prisustvom izraštaja koji nema lokomotornu funkciju i koji se naziva **haptonema**.

Razmnožavanje kod zlatnih algi može biti **vegetativno** (deoba ćelije, fragmentacija), **bespolno** (zoospore, autospore) i **polno** (hologamija, izogamija). Kao rezultat razmnožavanja kod zlatnih algi nastaju endogene **stomatociste** (statospore) iz kojih pri klijanju nastaju zoospore. Zlatne alge su široko rasprostranjene u slatkim, slanim i brakičnim vodama. Brojni predstavnici zlatnih algi među kojima su i oni koji proizvode toksične supstance, u vodenim ekosistemima mogu izazvati cvetanje vode.

Razdeo Chrysophyta obuhvata klase: 1. Chrysomonadophyceae, 2. Chrysopodophyceae, 3. Chrysocapsophyceae, 4. Chrysosphaerophyceae, 5. Chrysotrichophyceae. Najznačajniji rodovi zlatnih algi su: *Chrysamoeba*, *Dynobryon* (Slika 11a), *Synura*, *Mallomonas* (Slika 11b), *Discoshaera*, *Hydrurus*, *Phaeotamnion*.



Slika 11. Reprezentativni rodovi zlatnih algi: a) *Dynobryon* (foto Simeunović); b) *Mallomonas*

2.6. Razdeo Bacillariophyta (silikatne alge, dijatomeje)

Silikatne alge obuhvataju jednoćelijske i kolonijske predstavnike pri čemu se kolonije odlikuju promenljivim brojem ćelija (otvorene kolonije). Imaju specifičan izgled usled toga što je njihov protoplast smešten u **dvodelni silikatni pancir (frustula, teka)**, dok se na površini protoplasta nalazi **plazmalema**. **Pancir** se sastoji iz dva nejednaka dela, veći deo se naziva **epiteka**, a manji deo je **hipoteka**. Na svakom delu razlikuju se širi deo **valva** (ljuska) i uži deo **pleura** (pojas) i zbog toga silikatne alge uvek imaju najmanje dva izgleda: jedan sa valvalne i jedan sa pleuralne strane tela. Između valve i pleure kod mnogih dijatomeja postoje i dopunski pojasevi (međupojasevi) koji se nazivaju **kopula**. Valva epiteke je **epivalva**, a valva hipoteke je **hipovalva**. Valve mogu imati različit oblik: okrugle, štapićaste, pravougaone, klinaste, čunaste i dr. Kod silikatnih algi uvek postoje tri ose simetrije (poprečna, uzdužna i centralna) i tri ravni simetrije (poprečna, uzdužna i valvalna). Veliki broj predstavnika ovog razdela se odlikuje lučenjem galerte pektinske prirode.

Na panciru silikatnih algi se nalazi sistem prostora (**pore i areole**). Razlikuju se dva tipa areola, **lokulatne areole** koje imaju opnu (velum) sa gornje strane i jedan centralni otvor-foramen, i **poroidne areole** koje su potpuno otvorene i sa jedne i sa druge strane i nemaju velum. Kod mnogih predstavnika dijatomeja (klasa Pennatophyceae) na panciru je prisutna tvorevina poznata kao **rafa (šav)** koja predstavlja pukotinast otvor i koja ima ulogu u kretanju i u razmeni materija sa spoljašnjom sredinom.

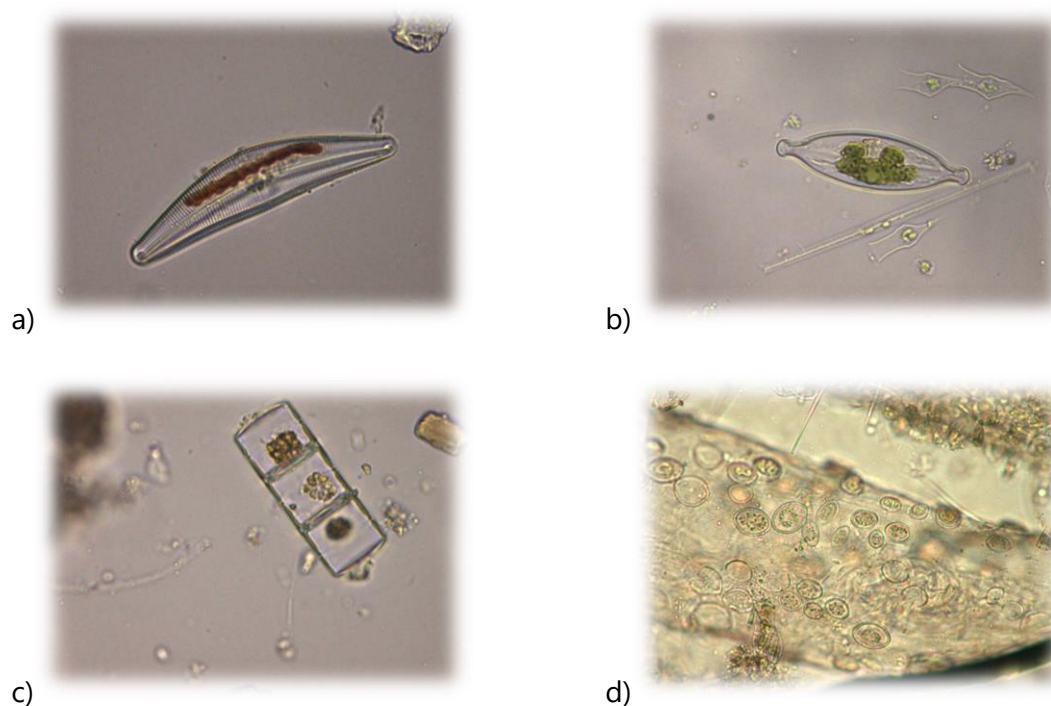
U citoplazmi su smešteni jedno diploidno jedro, centralna krupna vakuola, hloroplasti sa pigmentima (hlorofil *a* i *c*, karoteni i ksantofili od kojih je specifičan **dijatomin**) i rezervne hranljive supstance (ulje, hrizolaminarin i volutin). U hromatoforima su lamele građene od po tri tilakoida koji su opasani perifernim tilakoidom.

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Razmnožavanje kod silikatnih algi može biti **vegetativno** (deoba ćelije) i **polno** (izogamija, oogamija i autogamija), dok bespolnog razmnožavanja nema. U rezultatu polne reprodukcije iz zigota nastaju karakteristične **auksospore** koje na površini imaju tanku opnu **perizonijum** koja dozvoljava rast spore odnosno ćelije.

Silikatne alge su najviše rasprostranjene u slatkim i slanim vodenim ekosistemima gde su veoma važni primarni producenti i bioindikatori. Posebno su osetljive na spoljašnje faktore poput saliniteta, temperature i svetlosti. Panciri uginulih silikatnih algi u vodenim ekosistemima taloženjem stvaraju **dijatomejski mulj (dijatomit)** koji ima primenu u različitim industrijskim granama.

U okviru razdela Bacillariophyta izdvajaju se dve klase: 1. Centrophyceae i 2. Pennatophyceae. Reprezentativni predstavnici silikatnih algi pripadaju sledećim rodovima: *Stephanodiscus*, *Melosira* (Slika 12c), *Synedra* (Slika 12c), *Asterionella*, *Cocconeis* (Slika 12d), *Navicula* (Slika 12b), *Cyambella* (Slika 12a), *Surirella*.



Slika 12. Reprezentativni rodovi silikatnih algi: a) *Cyambella*; b) *Navicula*; c) *Melosira*; d) *Cocconeis* (foto Simeunović)

2.7. Razdeo Phaeophyta (mrke alge)

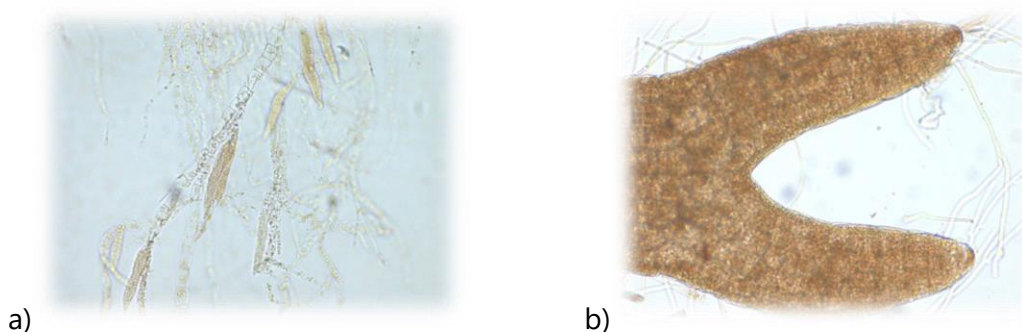
Razdeo Phaeophyta obuhvata višćelijske makroskopske, pretežno marinske alge. Najveći broj predstavnika ima končast razgranat ili kormoidan talus. Talusi ovih algi koji su na najvišem stupnju razvoja su anatomski složeni i kod njih je moguće razlikovati koru i srž između kojih se nalazi prelazna zona. Kod mnogih predstavnika

mrkih algi, naročito onih koji naseljavaju duboke marinske sredine, na talusu su uočljiva mehurasta proširenja ispunjena vazduhom **pnumatociste** (mehurovi za lebdenje) koji imaju ulogu u održavanju talusa u vodi. Na površini ćelija mrkih algi nalazi se celulozno-pektinski zid u kojem se osim celuloze i pektina nalazi i specifične supstance, soli alginskih kiselina **alginati**. U citoplazmi koja se nalazi uz ćelijski zid smeštene su organele (jedro, hromatofori i dr.), dok centralni deo ćelije zauzima jedna ili više vakuola. U hromatoforima koji se kod ove grupe algi označavaju kao **feoplasti**, nalaze se fotosintetski pigmenti hlorofil *a* i *c* i karotenoidi od kojih su najzastupljeniji β -karoten i fukoksantin. Feoplasti imaju složen sistem membrana koji je povezan sa jedrovom membranom (**hloroplastni endoplazmatični retikulum**). Pirenoid je kod ovih algi smešten van feoplasta. Rezervne supstance su alkohol manit, polisaharid laminarin i ulja. U talusu mnogih mrkih algi su uočljive i **fizode**, organele u kojima se nakupljaju taninske materije.

Mrke alge se razmnožavaju **vegetativno** (delovima talusa), **bespolno** (zoospore, tetraspore) i **polno** (izogamija, heterogamija, oogamija). Pokretni stadijumi ovih algi imaju lokomotorni aparat od dva heteromorfna i heterokontna biča koji su vezi sa očnom mrljom. Bespolne spore nastaju na sporofitu nakon redukcione deobe, haploidne su i iz njih se klijanjem razvijaju haploidni gametofiti na kojima se u odgovarajućim strukturama obrazuju haploidni gameti (plurilokularne sporangija-izogameti; oogonije - jajna ćelija i anteridije - spermatozoidi). Singamijom gameta se obrazuje diploidni zigot iz koga se razvija diploidni sporofit. Mrke alge imaju pravilnu smenu sporofit i gametofit faze u ciklusu razvića koja može biti izomorfna (klasa Ectocarpophyceae) ili heteromorfna (klasa Laminariophyceae). Međutim, postoje i takve mrke alge kao što je klasa Fucophyceae koje se ne razmnožavaju bespolno i nemaju smenu sporofit i gametofit faza u ciklusu razvića.

Ove alge su pretežno stanovnici marinskih ekosistema gde predstavljaju važne producente biomase, a zahvaljujući svojim krupnim talusima stvaraju podvodne šume i livade kao pogodna staništa brojnim marinskim vrstama.

Razdeo Phaeophyta obuhvata tri klase: 1. Ectocarpophyceae, 2. Laminariophyceae, 3. Fucophyceae. Najznačajnijij rodovi mrkih algi su: *Ectocarpus* (Slika 13a), *Padina*, *Dyctiota* (Slika 13b), *Laminaria*, *Macrocystis*, *Nereocystis*, *Fucus*, *Sargassum*.



Slika 13. Reprezentativni rodovi mrkih algi: a) *Ectocarpus*; b) *Dictyota* (foto Simeunović)

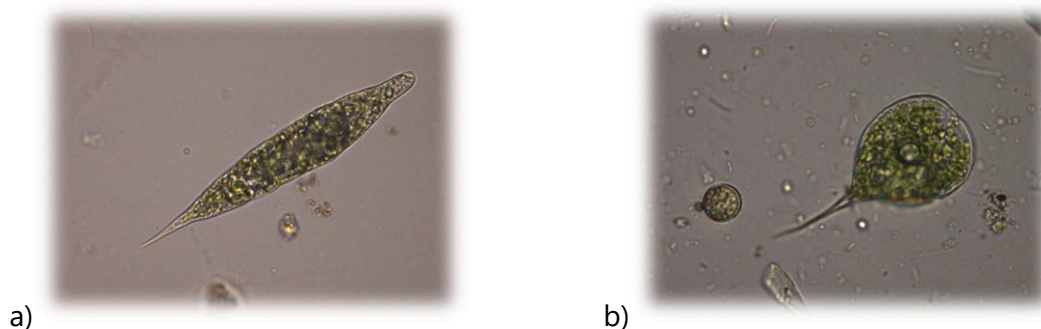
2.8. Razdeo Euglenophyta (euglenoidne alge)

Predstavnici razdela Euglenophyta su jednoćelijski organizmi na monadoidnom stupnju morfološke organizacije (aktivno pokretni). Pokretljivost ovih algi uslovljena je prisustvom lokomotornih organela odnosno bičeva koji mogu biti iste ili različite dužine i građe.

Alge ovog razdela nemaju ćelijski zid i kod većine predstavnika se na površini tela nalazi **pelikula** koja je pretežno proteinske prirode. Građena je od dugih, paralelnih, helikoidno raspoređenih pelikularnih traka ispod kojih se nalaze sistemi mikrotubula i mukocista koji luče sluz. Vrste sa elastičnom pelikulom mogu da menjaju oblik u granicama elastičnosti pelikule i takvi pokreti se nazivaju **metabolija**. Pojedini predstavnici na površini ćelije imaju teku. Na prednjem kraju tela euglenofita nalazi se udubljenje **ampula** koje komunicira sa pulsativnom vakuolom čiji se prednji suženi deo naziva "ždrelo" a donji prošireni deo je "rezervoar". Uz osnovu rezervoara nalazi se bazalna telašca od kojih polaze bičevi. Kod ovih algi se po pravilu javljaju dva biča pri čemu je često vidljiv samo jedan. U citoplazmi se na prednjem kraju tela nalazi fotoreceptor - **očna mrlja (stigma)**. Osim toga u citoplazmi su prisutni jedno jedro i hloroplasti različitog oblika sa pigmentima (hlorofil *a* i *b*, karotenoidi). U centralnom delu ćelije se nalazi primitivno jedno krupno jedro sa hromozomima koji su kondenzovani i tokom interfaze, ali koji za razliku od dinokariona imaju histone. U hloroplastima se kod nekih vrsta javljaju i pirenoidi – centri obrazovanja rezervne hranljive materije svojstvene ovim algama, a to je polisaharid **paramilon**. Većina algi ovog razdela su miksotrofi, neki su saprofiti-osmotrofi a postoje i predstavnici koji nemaju hlorofil (*Peranema*, *Astasia*) i koji se isključivo hrane heterotrofno (osmotrofno ili holozoijski). U nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine neki predstavnici prelaze u **palmeloidno stanje** ili u stadijum mirujuće spore. Razmnožavanje euglenoidnih algi je vegetativno i odvija se uzdužnom deobom ćelije.

Euglenoidne alge naseljavaju slatke i slane vode pri čemu su naročito tipične za tople, stajaće, slatke vode gde mogu biti značajni indikatori stanja tih vodenih ekosistema.

Razdeo Euglenophyta obuhvata samo jednu klasu: Euglenophyceae. Najznačajniji rodovi ove grupe algi su pored roda *Euglena* (Slika 14a), *Phacus* (Slika 14b), *Trachelomonas*, *Peranema*, *Astasia*.



Slika 14. Reprezentativni rodovi euglenoidnih algi: a) *Euglena*; b) *Phacus* (foto Simeunović)

2.9. Razdeo Chlorophyta (zelene alge)

Razdeo Chlorophyta obuhvata jednoćelijske, kolonijske, kapsalne, sifonalne i višećelijske alge. Od jednoćelijskih su zastupljena su dva tipa, monadni i kokoidni, dok rizopodijalnih zelenih algi nema. Kolonijske zelene alge mogu biti sa promenljivim brojem ćelija (otvoren tip kolonije) kao i sa konstantnim brojem ćelija (cenobije) koje su češće tip. Takvi talusi mogu biti pokretni ili nepokretni, građeni od istovetnih ćelija (monomorfne kolonije/cenobije) ili od različitih ćelija (polimorfne kolonije/cenobije). Višećelijski talusi koji se javljaju kod ove grupe algi su trihalni, heterotrihalni i kormoidni. Najprimitivniji predstavnici u okviru ovog razdela su **gimnoplasti**, dok se kod složenijih oblika na površini ćelije obrazuje **celulozno-pektinski** zid. U citoplazmi se obična jasno uočava centralna krupna vakuola sa ćelijskim sokom, dok je citoplazma potisnuta uz ćelijski zid. U ćelijama zelenih algi nalazi se jedno ili veći broj jedara, kao i veći broj hloroplasta različitog oblika (peharast, zvezdast, pločast, trajkast, sočivast i dr.). Oblik hloroplasta je značajno taksonomsko svojstvo zelenih algi. Hloroplast je obavijen dvoslojnom membranom, a u stromi se nalazi složeni sistem lamela građeni od 2-6-40 tilakoida koji čini grane. U hloroplastima se nalaze pigmenti **hlorofil a i b** i karotenoidi, a osim toga prisutan je i jedan ili veći broj pirenoida oko kojih se odlaže rezervna hranljiva supstanca, **skrob**.

Aktivno pokretni oblici zelenih algi poseduju **bičeve** (najčešće dva ili četiri **izokontna i izomorfna** biča) i **očnu mrlju** kao fotoreceptor koja nije u vezi sa lokomotornim aparatom.

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

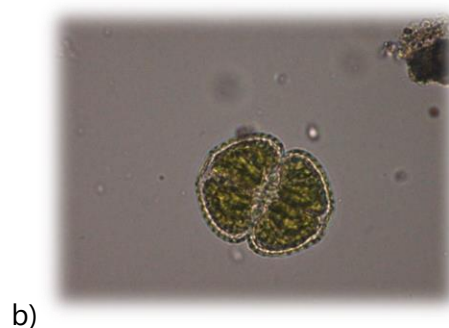
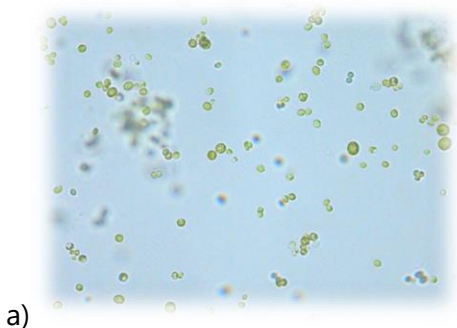
Zelene alge su primarno autotrofni organizmi, međutim postoji i određeni broj miksotrofnih predstavnika, pa čak i bezpigmentnih oblika poput rodova *Prototheca*, *Gloeochaeta*, *Hyaliella* koji se hrane heterotrofno.

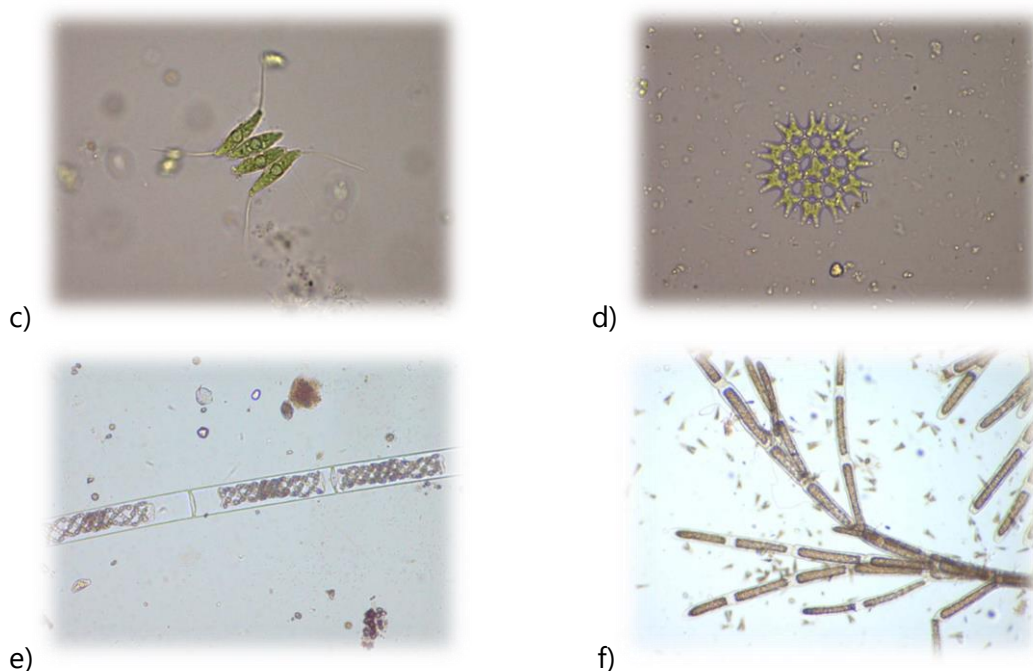
U okviru razdela zelenih algi zastupljeni su različiti tipovi **vegetativnog** (deoba ćelije, fragmentacija, delovima talusa), **bespolnog** (zoospore, autospore, aplanospore) i **polnog** (hologamija, izogamija, heterogamija, oogamija, konjugacija) načina razmnožavanja.

U okviru ove grupe algi u ciklusu razvića se javljaju sve tri smene jedrovih faza. Većinu odlikuje zigotska smena jedrovih faza (alge su haplonti). Gametska smena jedrovih faza (alge su diplonti) se pretežno javlja kod marinskih sifonalnih predstavnika. Intermedijarna smena jedrovih faza (haplodiploidni ciklus razvića) svojstvena je malom broju predstavnika zelenih algi kod kojih se javlja i pravilna smena sporofit i gametofit faze koja može biti izomorfna (npr. rod *Ulva*, *Cladophora*) ili heteromorfna (npr. rod *Ulothrix*).

Zelene alge su posebno karakteristične za vodena staništa kao što su to slatke vode, gde ulaze u sastav planktonskih i bentosnih zajednica, predstavljajući jednu od najznačajnijih grupa primarnih producenata.

Razdeo Chlorophyta obuhvata sledeće klase: 1. Volvocophyceae, 2. Tetrasporophyceae, 3. Protococcophyceae, 4. Ulothrichophyceae, 5. Siphonophyceae, 6. Conjugatophyceae. Repräsentativni rodovi zelenih algi su: *Chlorella* (Slika 15a), *Volvox*, *Eudorina*, *Tetraspora*, *Scenedesmus* (Slika 15c), *Ankistrodemsus*, *Pediastrum* (Slika 15d), *Hydrodictyon*, *Micractinium*, *Ulothrix*, *Oedogonium*, *Ulva*, *Halimeda*, *Bryopsis*, *Acetabularia*, *Cladophora* (Slika 15f), *Spirogyra* (Slika 15e), *Mougeotia*, *Zygnema*, *Cosmarium* (Slika 15b), *Closterium*, *Micrasterias*.





Slika 15. Reprezentativni rodovi zelenih algi: a) *Chlorella*; b) *Cosmarium*; c) *Scenedesmus*; d) *Pediastrum*; e) *Spirogyra*; f) *Cladophora* (foto Simeunović)

2.10. Razdeo Charophyta (pršljenčice)

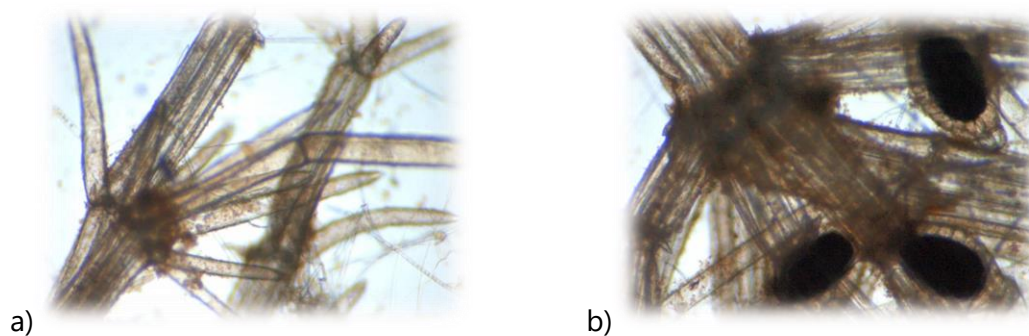
Razdeo Charophyta obuhvata krupne višćelijske alge kormoidne građe talusa. Spoljašnji izgled ovih algi je veoma specifičan i podseća na rastaviće. Žbunast razgranat talus je građen od končastih ili stablolikih člankovito-pršljenastih izdanaka. Na talusu se razlikuju **glavni i bočni izdanci**. Glavni izdanak sagrađen je od **članaka** (internodusa) i **kolenaca** (nodusa). Deobom ćelija nodusa nastaju kratki **bočni izdanci** (listoliki delovi - **filoidi**) pršljenastog rasporeda koji su ograničenog rasta. Internodije mnogih predstavnika pršljenčica obavije su jednoslojnom korom. Kora ako je prisutna jednoslojna je i građena je od nizova ćelija koji mogu biti primarni i sekundarni. U primarnim nizovima se smenjuju kratke nodalne i duge internodalne ćelije, dok se u sekundarnom nizu nalaze samo dugačke internodalne ćelije. Ukoliko je kora građena samo od primarnih nizova ona se naziva jednoredom, a ukoliko se u kori smenjuju primarni i sekundarni nizovi kora je dvoreda. Rast talusa se ostvaruje deobom temene ćelije čijom deobom se stvara četvoroćelijski kompleks koga čine gornja temena ćelija, ispod koje su raspoređene segmentalna ćelija, dvoguboisupčena (od koje nastaje internodalna ćelija) i dvoguboudubljena (od koje nastaju nodalne ćelije). Specifičnost građe talusa pojedinih pršljenčica je i postojanje **stipularnog venca**, ćelija koje su u vidu venca raspoređene ispod filoida. Oblik, raspored i dužina ćelija stipularnog venca su od taksonomskog značaja za pršljenčice. U zavisnosti od načina nastanka moguće je

2. SISTEMATIKA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

razlikovati određene tipove stupularnog venca: jednostran, dvostran, jednoredi, dvoredi, troredi. Čitav talus se za podlogu pričvršćuje **rizoidima** na kojima se često razvijaju **krtolice** (jednoćelijske ili višećelijske). Krtolice se mogu razviti i na donjim delovima stabla ali su one uvek višećelijske.

Pršljenčice se razmnožavaju **vegetativno** (krtolice i delovi talusa) i **polno** (oogamija). Muški polni organi (anteridije) i ženski polni organi (oogonije) razvijaju se iz posebnih ćelija na periferiji nodusa listolikih delova. Anteridije su najčešće loptaste sa omotačem od osam štitastih ćelija, dok su oogonije jajastog oblika i imaju omotač od pet spiralnih ćelija koje se na vrhu oogonije završavaju krunicom. Nakon oplodnje na nivou zigota (oospora) se dešava mejotska, a potom i mitotska deoba dajući četiri haploidna jedra. Deobom protoplasta obrazuju se dve ćelije od kojih jedna sadrži jedno jedro i druga koja sadrži tri jedra. Deobom jednojedarne ćelije nastaje dve od kojih će jedna dati začetak rizoida, a druga proklicu. Na taj način se obrazuje nova haploidna jedinka. Kod Charophyta postoji i **partenogeneza** kao način razmnožavanja, što podrazumeva da se oospore obrazuju apogamno (bez oplodnje) iz diploidnih jajnih ćelija, a jedinke koje se iz njih razvijaju su diplonti. Pršljenčice su pretežno slatkovodne bentosne alge.

Razdeo Charophyta obuhvata jednu klasu, Charophyceae sa najznačajnijim predstavnicima kao što su *Chara*, *Nitella* i *Tolypella*.



Slika 16. Reprezentativni rod pršljenčica *Chara*: a) člankovit talus; b) oogonije (foto Simeunović)

Cijanobakterije (modro-zelene alge) su prokariotske alge sa jednoćelijskim, kolonijskim i trihalnim tipom talusa. Imaju višeslojan ćelijski zid, a citoplazma je podeljena na centroplazmu i hromatoplazmu. U hromatoplazmi u tilakoidima su prisutni hlorofila a, karotenoidi i fikobilini. U centroplazmi su fibrile DNK. Mogu imati i specijalizovane ćelije (heterociste i akinete) u talusu. Posebno su česte u slatkim i marinskim ekosistemima gde mogu izazvati

cvetanje vode. Brojne vrste su toksične. Razmnožavaju se vegetativno (deoba, nanocite, hormogonije i dr.) i bespolno (egzo i endospore).

Crvene alge su pretežno marinske bentosne i retko slatkovodne. Većina ima višćelijski talus složene građe (trihalni, heterotrihalni, pseudoparenhimatični i parenhimatični). Ćelijski zid sadrži polisaharide (agar, karagenane i gelane), a u citoplazmi se pored ostalih organela nalaze rodoplasti sa pigmentima hlorofilima *a* i *d*, karotenoidima i fikobilinima. Rezervna materija je floridea skrob. Razmnožavaju se vegetativno (deoba, delovima talusa), bespolno i polno (atipična oogamija: nepokretan muški gamet – spermacija nastao u anteridiji i ženski nepokretan gamet - jajna ćelija koja nastaje u karpogonu).

Vatrene alge su pretežno jednoćelijske monadoidne, dok su kokoidni i trihalni predstavnici retki. Talus je dorziventralne građe sa jednom ili dve brazde. Mogu biti gimnoplasti, sa celuloznim pancirom ili imati ćelijski zid. Pokretni oblici imaju dva heterokontna biča. U protoplastu se nalaze dinokarion, krupna vakuola, trihociste, hromatofori sa pigmentima (hlorofil *a* i *c*, karotenoidi). Specifični su pigmenti iz grupe ksantofila peridin, dinoksantin i dijadinoksantin. Rezervna materija je skrob. Razmnožavaju se vegetativno, bespolno i samo neki polno. U vodenim sredinama mogu izazivati cvetanja pri čemu brojni predstavnici produkuju toksine.

Žuto-zelene alge se nalaze na jednoćelijskom, kolonijalnom, sifonalnom i končastom stupnju morfološke organizacije. Aktivno pokretni oblici najčešće po dva biča nejednake dužine i građe (heterokonte). Većine poseduje celulozno-pektinski ćelijski zid koji može biti jednodelan ili dvodelan. U pigmentnom sastavu sadrže hlorofil *a*, *c1*, *c2*, β - karoten i ksantofile. Glavna rezervna materija je polisaharid hrizolaminarin. Razmnožavaju se vegetativno, bespolno i samo pojedini rodovi polno (Botrydium - izogamija, Vaucheria – oogamija).

Zlatne alge obuhvataju jednoćelijske (kokoidne, rizopodijalne i monadne), kolonijske i višćelijske trihalne i heterotrihalne predstavnike. Mogu biti gimnoplasti, imati ćelijski zid ili kućicu. U hromatoforima su pigmenti hlorofil *a* i *c*, karoteni i ksantofili (fukoksantin i violaksantin). Većina pokretnih oblika ima dva biča najčešće različite građe i dužine. Razmnožavanje može biti vegetativno (deoba ćelije, fragmentacija), bespolno (zoospore, autospore) i polno (hologamija, izogamija). Obrazuju endogene stomatociste (stato-spore).

Silikatne alge obuhvataju jednoćelijske i kolonijske predstavnike. Imaju specifičan izgled usled toga što je njihov protoplast smešten u dvodelni silikatni pancir (frustula, teka). Kod mnogih predstavnika na panciru je prisutna rafa (šav). U citoplazmi se nalazi jedno diploidno jedro, krupna vakuola, hloroplasti sa pigmentima (hlorofil *a* i *c*, karoteni i ksantofili od kojih je specifičan dijatomin) i rezervne hranljive supstance (ulje, hrizolaminarin i volutin). Razmnožavaju se vegetativno (deoba ćelije) i polno (izogamija, oogamija i autogamija). Iz zigota nastaju karakteristične auksospore. Rasprostranjene u slatkim i slanim vodenim ekosistemima gde su veoma važni primarni producenti i bioindikatori.

Mrke alge su višećelijske makroskopske (končast i kormoidan talus), pretežno marinske alge. Ćelijski zid sadrži alginat. U hromatoforima (feoplasti), nalaze se pigmenti hlorofil *a* i *c* i karotenoidi od kojih su najzastupljeniji β -karoten i fukoksantin. Rezervne supstance su alkohol manit, polisaharid laminarin i ulja. U talusu kod nekih su uočljive i fizode, u kojima se nakupljaju taninske materije. Pokretni stadijumi ovih algi imaju lokomotorni aparat od dva heteromorfna i heterokontna biča. Mrke alge se razmnožavaju vegetativno (delovima talusa), bespolno (zoospore, tetraspore) i polno (izogamija, heterogamija, oogamija).

Euglenoidne alge su jednoćelijske monadoidne (aktivno pokretni) sa bičevima koji mogu biti iste ili različite dužine i građe. Na površini ćelije je pelikula koja kod nekih omogućuje metaboliju. Imaju očnu mrlju, jedro, hromatofore sa pigmentima hlorofil *a* i *b* i karotenoidi) i rezervnu materiju paramilon. Neki predstavnici se hrane isključivo heterotrofno. Razmnožavanje je vegetativno i odvija se uzdužnom deobom ćelije.

Zelene alge obuhvataju jednoćelijske, kolonijske, kapsalne, sifonalne i višećelijske oblike. Najprimitivniji predstavnici su gimnoplasi, dok se kod složenijih oblika obrazuje celulozno-pektinski zid. U ćelijama se nalazi jedno ili veći broj jedara, kao i veći broj hloroplasta različitog oblika (peharast, zvezdast, pločast, trajkast, sočivast i dr.) što je važno taksonomsko svojstvo. U hloroplastima se nalaze pigmenti hlorofil *a* i *b* i karotenoidi, kao i jedan ili veći broj pirenoida. Rezervna hranljiva supstanca je škrob. Aktivno pokretni oblici poseduju bičeve i očnu mrlju. Zastupljeni su različiti tipovi vegetativnog (deoba ćelije, fragmentacija, delovima talusa), bespolnog (zoospore, autospore, aplanospore) i polnog (hologamija, izogamija, heterogamija, oogamija, konjugacija) razmnožavanja.

Pršljenčice obuhvataju krupne višćelijske alge kormoidne građe talusa (glavni i bočni člankovito građeni izdanci sa nodusima internodusima) pretežno slatkovodne. Internodije mnogih predstavnika obavijene su jednoslojnom korom. Na rizoidu se uočavaju krtolice. Talus raste vršno i kod nekih predstavnika uočava se stipularni venac (ćelije koje su u vidu venca rapoređene ispod filoida). Pršljenčice se razmnožavaju vegetativno (krtolice) i polno (oogamija).

Literatura:

1. Barsanti L., Gualtieri P. (2006): *Algae – Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press Taylor and Francis Group, ISBN 10 0-8493-1467-4, str. 301.
2. Blaženčić J. (2007): *Sistematika algi*. VI izdanje, NNK International Beograd, ISBN: 978-86-83635-67-2, str. 298.
3. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. (2001): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams&Wilkins, Maryland USA Lewin.
4. Komarek J. and Anagnostidis K. (1999): *Cyanoprocariota*. 1. Teil *Chroococcales*. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H. and Möllenhauer D. (Eds.): *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Band 19/1. G Fischer Verlag, Jena, pp. 548.
5. Lewin, R. (1979): *Formal Taxonomic Treatment of Cyanophytes*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 29 (4): 411-412.
6. Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E. (1992): *Biology of Plants*. Worth Publishers, New York.
7. Rippka R. (1988): *Recognition and identification of Cyanobacteria*. *Methods in enzymology*, 167: 28-67.
8. Lee Robert Edward (2008): *Phycology*, Cambridge University Press, UK, ISBN-13 978-0-511-38669-5, str.547.
9. Carr N.G. and Whitton B.A. (1982): *The Biology of Cyanobacteria*, Blackwell, Oxford and University of California Press, Berkeley. pp. 543-564.
10. Simeunović J. (2010): *Cijanobakterije i cijanotoksini u površinskim vodama Vojvodine*. Biblioteka Dissertatio Zadužbina Andrejević, Beograd, ISBN 978-86-7244-903-7, str.120.
11. Simeunović J., Svirčev Z., Gajin S. (2000): *Effect of N₂-fixing cyanobacteria on higher plants grown in sand*. *Proc. Nat. Sci., Matica Srpska Novi Sad*, 99:45-53.
12. Kovač D., Babić O., kaišarević S., Stanić B., Mihajlović V., P. Davidović, P. Marić, Smital T., Simeunović J. (2021): *Evaluation of cyanobacterial toxicity using different biotests and protein phosphatase inhibition assay*. *Environ Sci Pollut Res* (2021). <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14110-2>.
13. Wolk, C.P. (1980): *Cyanobacteria (Blue-green algae)*. *The Biochemistry of Plants* 1: 659-687.

3. KULTIVACIJA CIJANOBakterija I ALGI - KOLEKCIJE KULTURA

3.1. Kolekcija kultura cijanobakterija i mikroalgi

Kolekcije kultura predstavljaju specijalizovane zbirke (banke, biblioteke) u kojima se gaje, čuvaju, selekcionišu i koriste kako različiti živi mikroorganizmi, tako i važni produkti njihove metaboličke aktivnosti. Kao takve one su bitan i neophodan način očuvanja biodiverziteta koje nude mogućnost ciljanog selekcionisanja i korišćenja mikroorganizama u različitim oblastima nauke i industrije. Prvobitna definicija kolekcije kultura kao biblioteke sojeva se u novije vreme menja, usled razvoja molekularne biologije, čime je uveden noviji termin "biblioteka gena" odnosno "banka gena". Zbog toga je i uloga kolekcija kultura unapređena u pravcu kreiranja mapa gena i sekvencioniranih genoma, uz neophodno formiranje baze podataka.

Formiranje kolekcija kultura cijanobakterija i mikroalgi podrazumeva primenu čitavog niza odgovarajućih tehnika i metoda. Najvažnije među njima su metode **uzorkovanja, izolacije, determinacije, purifikacije, kultivacije i prezervacije sojeva**.

Alge i cijanobakterije su organizmi koji su se zahvaljujući plastičnošću svog metabolizma prilagodili životu u različitim staništima. Naseljavaju sve tipove vodenih ekosistema (slatke, slane, brakične vode), različita terestrična staništa i staništa sa ekstremnim uslovima. Takođe se mogu naći na prirodnim podlogama kao što su životinje (lenjivci, beli medvedi, puževi, rakovi i sl.) i biljke, međutim mogu da kolonizuju i veštačke supstrate (brane, fontane, bazene i sl.). S obzirom na to da imaju tako široko rasprostranjenje, alge i cijanobakterije su lako dostupne za sakupljanje, posmatranje i istraživanje. Glavni preduslov za njihovo istraživanje predstavlja upravo formiranje kolekcije kultura sojeva različitog porekla.

3.1.1. Uzorkovanje

Osnovni preduslov za uspešnu izolaciju sojeva algi i cijanobakterija jeste prepoznavanje i uzorkovanje iz njihovih staništa, zbog čega je od ključnog značaja poznavanje njihove ekološke distribucije. Rast cijanobakterija i algi u prirodnim staništima može da bude različit, od mikroskopskog do makroskopskog pojavljivanja koje može biti prepoznatljivo po dominantnim vrstama. Rast u vodenim sredinama se prepoznaje i uočava po promeni boje vode, po ćelijskog flokulisanoj biomasi različite kompaktnosti koja se nakuplja na površini vode, po obraštaju na vodenim organizmima i sl. Alge se najlakše iz vodenih sredina mogu sakupljati korišćenjem planktonske mrežice sa otvorima 10-25 µm. Takođe, ukoliko je prisutna veća količina koncentrisanih algalnih ćelija, moguće je uzorkovanje

izvršiti sterilnom bocom širokog otvora. Perifitonske mikroalge se sakupljaju postavljanjem veštačkog staklenog supstrata (npr. predmetno staklo) u vodu čija kolonizacija zahteva 1-2 nedelje. Perifitonske alge se takođe mogu sakupljati grebanjem i skidanjem sa prirodnih supstrata na kojima rastu.

Rast na terestričnim podlogama se može ispoljiti u vidu glatkih slojeva ili somotu sličnih naslaga, kompaktne mase, korastih agregacija ili u vidu želatinoznih ili dlakavih kolonija. Ovu grupu algi je moguće uočiti u prirodnim staništima i zbog njihove karakteristične boje, koja može da varira od zelene do purpurno crvene pa čak i crne. Iz takvih sredina se alge i cijanobakterije mogu uzorkovati korišćenjem sterilnog pribora (skalpela, igala, pinceta i dr.) sakupljajući osim algi i podlogu na kojoj one rastu.

3.1.2. Izolacija

Jedan od ključnih koraka u formiranju kolekcije kultura predstavlja izolacija targetnih mikroorganizama iz prirodnih uzoraka. S obzirom da prirodni uzorci uvek sadrže različite grupe mikroorganizama, potrebno je izvršiti razdvajanje mikroalgi i cijanobakterija od ostalih vrsta prisutnih u uzorku. Ovaj proces je veoma zahtevan, jer se u prirodi i mikroalge i cijanobakterije nalaze u asocijacijama sa drugim organizmima. Postoji nekoliko vrlo pogodnih laboratorijskih tehnika za izolaciju mikroalgi i cijanobakterija, kao što su izolacija i separacija pojedinačnih ćelija ili čitavih talusa mikropipetom (**mikromanipulacija**), tehnika serije razređenja, sukcesivnim gajenjem na odgovarajućim tečnim i čvrstim hranljivim podlogama. Međutim, treba imati u vidu da ne postoji univerzalna hranljiva podloga za izolaciju svih mikroalgalnih ili cijanobakterijskih predstavnika prisutnih u uzorku zbog čega je potrebno koristiti istovremeno više različitih tipova podloga koje omogućavaju rast uzorkovanih vrsta. Pri izboru podloge za izolaciju trebalo bi imati u vidu i namenu kulture. Da li će se ona koristiti u nastavne svrhe ili za istraživanje? Da li je potrebno da kultura bude aksena (oslobođena pratećih mikroorganizama ili je dovoljno da bude unialgalna? Da li će se kultura koristiti u određenom stadijumu, vegetativnom i/ili reproduktivnom ili u određenoj fazi rasta? Za uspešan rast i razvoj kultura mikroalgi neophodno je pre svega da podloga sadrži sve potrebne makroelemente (organogene elemente - C, O, H, N, P, K, S, Ca, Mg i Fe) koji su prisutni u miligramskim količinama po litri podloge. Osim njih potrebno je obezbediti i prisustvo mikroelemenata (oligoelementi -B, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl, Ni i dr.) prisutnih u podlozi u mikrogramskim količinama ili u tragovima. Za izolaciju cijanobakterija postoji više podloga koje se preporučuju, a najčešće koje se u praksi koriste u velikim svetskim kolekcijama kultura su: BG-11 (sa ili bez azota u zavisnosti od toga da li su cijanobakterije azotofiksatori ili ne), Z8 podloga, Allen-ova podloga, Bristol podloga, Aiba i Ogava podloga, SOT podloga, ASN III podloga i dr. Za izolaciju mikroalgi se koriste različite podloge za određene grupe algi: Algae broth, Bristol podloga, Bold-ova podloga (BB), Bijernik podloga, DYIII podloga, podloga za dijatomeje i dr.

3.1.3. Determinacija (identifikacija)

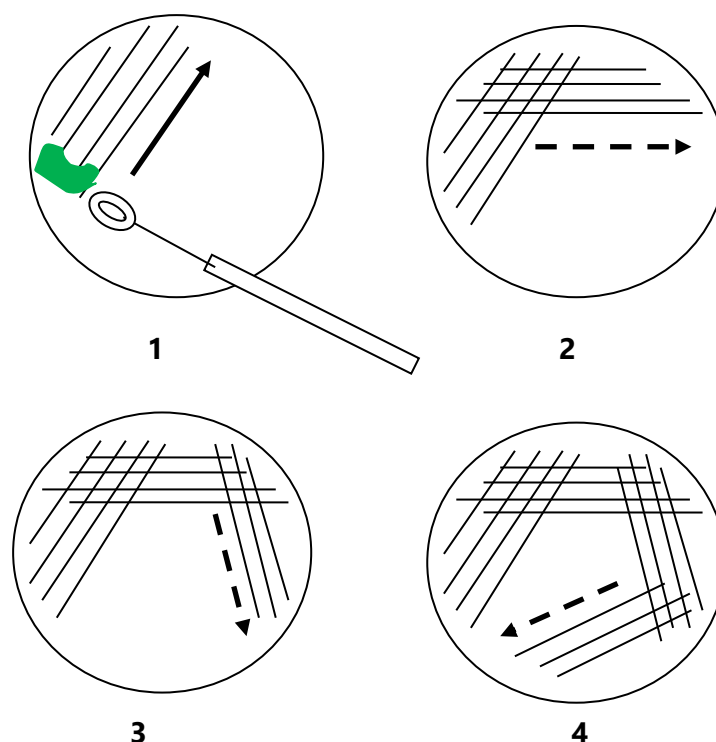
Determinacija cijanobakterijskih i mikroalgalnih taksona može da se vrši do određenog taksonomskog nivoa, najčešće do nivoa roda ili vrste. Za determinaciju se mogu koristiti različiti kriterijumi i tehnike. Najčešće se kao polazni kriterijum uzimaju morfološke karakteristike kultura (zajedno sa podacima o staništu), što podrazumeva mikroskopski pregled uz korišćenje adekvatnih ključeva za determinaciju. Pored morfoloških karakteristika, u laboratorijskim uslovima je poželjno odrediti ekofiziološke, biohemijske i genetičke karakteristike kultura koje mogu biti od velike pomoći u preciznijoj identifikaciji vrsta. Od ekofizioloških svojstava najčešće se određuju karakteristike kao što su kriva rasta, stopa rasta, broj deoba, ishrana i dr. Što se biohemijskih karakteristika tiče preporučuje se pored sastava pigmenata da se odredi masno-kiselinski sadržaj i sastav (kompozicija masnih-kiselina - FAME) i produkcija sekundarnih metabolita. Od genetičkih analiza se najčešće koristi određivanje molekularnog sadržaja kao što je %G/C parova, hibridizacija DNK, upotreba dizajniranih molekularnih proba nukleinskih kiselina, DNK fingerprinting, sekvenciranje čitavih genoma, „ribotyping“/rRNK sekvenciranje (sekvenciranje 5S, 18S, 28S, 16S rRNK) i dr.

3.1.4. Purifikacija (isčišćavanje)

Isčišćavanje je process koji se preduzima nakon dobijanja izolata cijanobakterija i mikroalgi koja sadrži jednu kulturu (monoalgalna kultura), vrstu odnosno soj, radi oslobađanja od pratećih kontaminanata (bakterija, protozoa, plesni). Postoji relativno velik broj različitih tehnika isčišćavanja kultura cijanobakterija i mikroalgi. Mnoge od njih se baziraju na Pringsheim-sovoj metodi u kojoj se pojedinačne ćelije uspešno prenose unutar nekoliko kapi sterilne podloge koristeći mikropipetu, pod mikroskopom u sterilnim uslovima (mikromanipulacija). Kontaminanti takođe mogu biti eliminisani iz kultura korišćenjem drugih metoda, kao što su metoda iscrpljivanja na čvrstoj hranljivoj podlozi (Slika 17) zatim centrifugiranje, filtriranje uz ispiranje filtera, serija razredjenja, sprejisanje ili primena adekvatnih antibiotika.

Najčešće se za jednoćelijske i kolonijske predstavnike primenjuje tehnika mikromanipulacije, dok je za kolonijske i filamentozne vrste posebno pogodna tehnika iscrpljivanja na agarizovanoj podlozi. Antibiotici se primenjuju u slučaju bakterijske kontaminacije kultura mikroalgi i cijanobakterija, pri čemu se preporučuje apliciranje mešavine tri antibiotika: penicilin, streptomycin i gentamicin u koncentraciji 50-500‰ w/v. Takođe je moguća primena i tetraciklina, bacitracina i hloramfenikola. Međutim, važno je napomenuta da odsustvo bakterija ne znači uvek i aksenost kulture, jer postoje određene bakterije koje ne reaguju na standardno primenjene uslove. Zbog toga se u praksi aksena kultura označava terminom "kultura bez vidljivih nepoželjnih prokariota i eukariota".

Određene kulture cijanobakterija i mikroalgi mogu uginuti u aksenim uslovima zbog eliminacije pratećih bakterija sa kojima su bile u obligatorno simbiotskim odnosima.



Slika 17. Tehnika isčišćavanja kultura na agarizovanoj podlozi

Nakon dobijanja aksenih kultura, one se dalje kultivišu i održavaju u odgovarajućim optimalnim uslovima, definisanim u skladu sa potrebama date kultura. Pri tom je veoma važno u cilju eliminacije moguće kontaminacije, obezbediti najmanje dve serije stok kultura, jedne koje će služiti kao kulture za održavanje (**matične kulture**) i druge koje će se koristiti kao **starter kulture** u različitim istraživanjima i procesima. Danas su aksene kulture cijanobakterija i mikroalgi komercijalno dostupne u velikom broju svetskih kolekcija kultura poput PCC (Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria, Pariz, Francuska); NORCCA (Norwegian Culture Collection of Algae, Oslo Norveška); UTEX (University of Texas Culture Collection, Ostin, SAD); SAG (Culture Collection of Algae at Göttingen University, Gutinegen, Nemačka); CHIRO (Collection of Living Microalgae, Hobart, Australija); CCAP (Culture Centre of Algae and Protozoa, Kembridž, Velika Britanija); CCMP (Provasoli-Guillard National Centre for Culture of Marine Plankton, Main, SAD); UTCC (Culture Collection of Algae and Cyanobacteria, Toronto, Kanada) i dr.

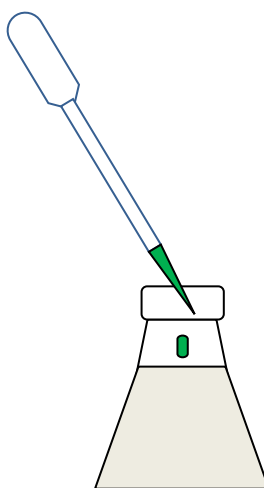
3.1.5. Kultivacija i održavanje

Kultivacija algi podrazumeva ispunjavanje minimalnih kriterijuma za gajenje, koji obuhvataju odabir adekvatne hranljive podloge, pH, odgovarajuće temperaturne i svetlosne uslove. Pri izboru podloge za gajenje mikroalgi treba imati u vidu i namenu

3. KOLEKCIJE KULTURA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

kulture. Izbor podloge će biti adekvatan ukoliko se uzmu u obzir karakteristike staništa izolovanih vrsta ili ako se znaju zahtevi i potrebe sličnih organizama koji već postoje u kolekciji kultura. Za gajenje cijanobakterija i mikroalgi u kolekcijama koriste se različite tečne i čvrste hranljive podloge. U cilju uspešnog rasta i razvoja kultura mikroalgi neophodno je odabrati onu hranljivu podlogu na kojoj kultura ostvaruje optimalan rast.

Prema sadržaju, one se mogu podeliti grubo na dva osnovna tipa: **nedefinisane podloge** i **definisane podloge**. Kod nedefinisanih hranljivih podloga sastav nije tačno određen i one se koriste za uzgajanje mnogih slatkovodnih, marinskih kao i zemljišnih predstavnika mikroalgi. Njihova priprema podrazumeva korišćenje zemljišnog rastvora ili ekstrakta koji se po potrebi dodaje podlogama. Za gajenje kultura većine algi u kolekcijama, koriste se definisane mineralne hranljive podloge tačno određenog sastava. Najčešće su to tečne mineralne podloge različitog sastava, u zavisnosti od vrste alge koja se kultiviše (BG-11 sa ili bez azota, Z8 podloga, Allen-ova podloga, Bristol podloga, Aiba i Ogava podloga, SOT podloga, ASN III podloga Algae broth, Bold-ova podloga (BB), Bijernik podloga, DYIII podloga i dr.). Sve podloge se razlivaju u staklene posude poput Erlenmajer posuda, epruveta i sl. i sterilišu se u autoklavu ($T=121^{\circ}\text{C}$, pritisak od 1 atmosfere u trajanju od 15-20 minuta). Nakon hlađenja podloge, vrši se zasejavanje algi unošenjem određene količine inokuluma algi u sterilnu podlogu sterilnom pipetom (Slika 18). Kulture je moguće gajiti i na agarizovanoj podlozi, koja podrazumeva dodavanje agara (1-1,5%) u tečni medijum pre sterilizacije, a nakon sterilizacije podloga se pre zasejavanja, ostavlja da se hlađenjem stvrde. Podloge koje se koriste za izolaciju cijanobakterija i mikroalgi koriste se i za njihovu kultivaciju u kontrolisanim laboratorijskim uslovima.



Slika 18. Zasejavanje inokuluma mikroalgi u tečnu hranljivu podlogu

3. KOLEKCIJE KULTURA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Za uspešnu kultivaciju neophodno je obezbediti i podesne temperaturne uslove, optimalnu vrednost pH sredine i svetlost. Najveći broj vrsta mikroalgi raste u neutralnoj ili alkalnijoj sredini (pH 7-10). Temperatura rasta može da varira u opsegu 5-10 stepeni, u zavisnosti od vrste i uslova sredine staništa iz kog je kultura izolovana. Najpogodnija temperatura za kultivaciju sojeva iz umerenih predela je temperature oko 10-25°C, za sojeve izolovanih iz hladnih predela ona treba da je niža od 10°C, dok za sojeve iz tropskih predela temperatura treba da bude viša od 20°C. Najveći broj cijanobakterija i mikroalgi uspešno raste u temperaturnom opsegu 16-27°C, koji se najčešće i koristi u svetskim kolekcijama kultura.

Intenzitet svetlosti igra značajnu ulogu u kultivaciji fotoautotrofa, međutim svetlosni uslovi mogu jako da variraju u zavisnosti od gustine i dubine algalne kulture. Previše jak intenzitet svetlosti može rezultovati fotoinhibicijom. Intenzitet osvetljenosti treba da je u opsegu od 200 do 500 lux-a odnosno 100-200 $\mu\text{E sec}^{-1} \text{m}^{-2}$. Preporučuje se, ukoliko je to moguće, inkubacija kultura i na režimu kontinuirane osvetljenosti i na režimu smene svetla i tame. U pogledu trajanja perioda osvetljenosti i tame, najčešće se koriste dva režima, ciklus sa 16 časova osvetljenosti i 8 časova tame i drugi ciklus 12 časova svetla i 12 časova tame. Pri kultivaciji je potrebno u određenim slučajevima obezbediti i mešanje kulture što se postiže stavljanjem kulture na mešalicu ili uduvavanjem sterilnog vazduha čime se istovremeno obezbeđuje i dostupnost ugljen-dioksida. Aeracija kulture je neophodna da bi se sprečila sedimentacija ćelija i ubrzala ramena gasova. Mešanje kultura je takođe potrebno u određenim uslovima primeniti iz više razloga: da se spreči sedimentacija ćelija, da se osigura podjednaka dostupnost nutrijenata i svetlosti, da se izbegne termalna stratifikacija i da se unapredi razmena gasova izmedju podloge i vazduha. U zavisnosti od kultivacionog sistema za mešanje se može postići na više načina: ručno, šejkerom, aeracijom, korišenjem lopatica i mlaznih pumpi. Međutim, potrebno je imati u vidu da pojedine vrste ne mogu podneti snažno mešanje. Većina kultura može uspešno da raste i bez mešanja, ali se svakako preporučuje da se jednom dnevno kultura ručno promeša.

U mnogim laboratorijama postoje posebno dizajnirane sobe za gajenje cijanobakterija i mikroalgi. U takvim prostorijama obezbeđeni su konstantni temperaturni uslovi, kao i kontrola osvetljenosti i aeracije kultura. Primer jedne takve kolekcije kultura je i **Novosadska kolekcija kultura cijanobakterija-NSCCC**, koja je formirana na Departmanu za biologiju i ekologiju u okviru Katedre za mikrobiologiju, a koja broji više od 100 različitih sojeva cijanobakterija i mikroalgi (Slika 19).

Posude za kultivaciju cijanobakterija i mikroalga moraju biti od materijala koji je netoksičan, transparentan za svetlost, hemijski inertan, pogodan za sterilizaciju i da obezbeđuje veliki odnos površine i zapremine. Najčešće se koriste staklene (uključujući borosilikatno staklo) posude epruvete i erlenmajeri), posude od polikarbonata i polistirena.



Slika 19. Kulture cijanobakterija u NSCCC kolekciji (foto Simeunović)

3.1.6. Prezervacija i čuvanje kultura

Nakon dobijanja aksekih unialgalnih kultura cijanobakterija i mikroalgi, sledeći neophodan korak je održavanje i čuvanje u vidu stabilnih genetičkih vrsta/sojeva. Metode koje se najčešće koriste za dugoročnije čuvanje dobijenih kultura su zasejavanje na kosu agarizovanu podlogu, zasejavanje ubodom u duboki agar, imobilizacija na agaru, održavanje kulture u serijskim subkulturama, liofilizacija i krioprezervacija. Liofilizacija, koja podrazumeva proces eliminacije vode iz ćelija pri niskoj temperaturi (-80°C) i pritisku, je čest način čuvanja kultura u dehidratisanom obliku u brojnim svetskim kolekcijama. Krioprezervacija podrazumeva upotrebu određenog krioprotektanta (glicerol, DMSO, tečni azot) pri čemu se kulture čuvaju u tečnom medijumu na temperaturi nižoj od -140°C . Takav metod je najpouzdaniji je i najsigurniji način dugoročnog održavanja i čuvanja genetičke stabilnosti kultura.

Fiksativi za prezervaciju uzoraka

Za fiksiranje uzoraka cijanobakterija i mikroalgi koriste se formalin, lugol, alkohol ili odgovarajuće mešavine. Komercijalni formaldehid (40%) je fiksativ koji se ranije više koristio u razblaženoj varijanti (1/10 ili 1/20) ili pomešan sa drugim sredstvima poput glacijalne sirćetne kiseline i alkohola. Alge se u razblaženom formalinu mogu držati duži vremenski period (više godina) pri čemu se rastvor obično zamenjuje 70% alkoholom ili 5% glicerolom. Lugolov rastvor (0,05-1%) je mnogo poželjniji fiksativ s obzirom da nije kancerogen kao što je to formaldehid, koji se primenjuje za kratkotrajnije (nekoliko meseci do godinu dana) čuvanje uzoraka mikroalgi i cijanobakterija, pri čemu se uzorci moraju čuvati u tamnim bocama.

3.2. Tipovi kultura cijanobakterija i mikroalgi i metode kultivacije

U zavisnosti od kriterijuma koji se koristi, moguće je razlikovati nekoliko osnovnih načina kultivacije i tipova kultura cijanobakterija i mikroalgi. Postoje **otvoreni** sistemi za kultivaciju (ne-aksemi koji su značajno većeg obima, teži za kontrolisanje, neujednačenog kvaliteta finalnog proizvoda, jeftiniji) i **zatvoreni** (aksemi, manjeg obima, strogo kontrolisani, ujednačenog kvaliteta, skuplji) sistemi za kultivaciju.

U svetskim kolekcijama koriste se različiti tipovi kultura od kojih su najčešće u upotrebi šaržne ("batch"), kontinualne i semikontinualne kulture.

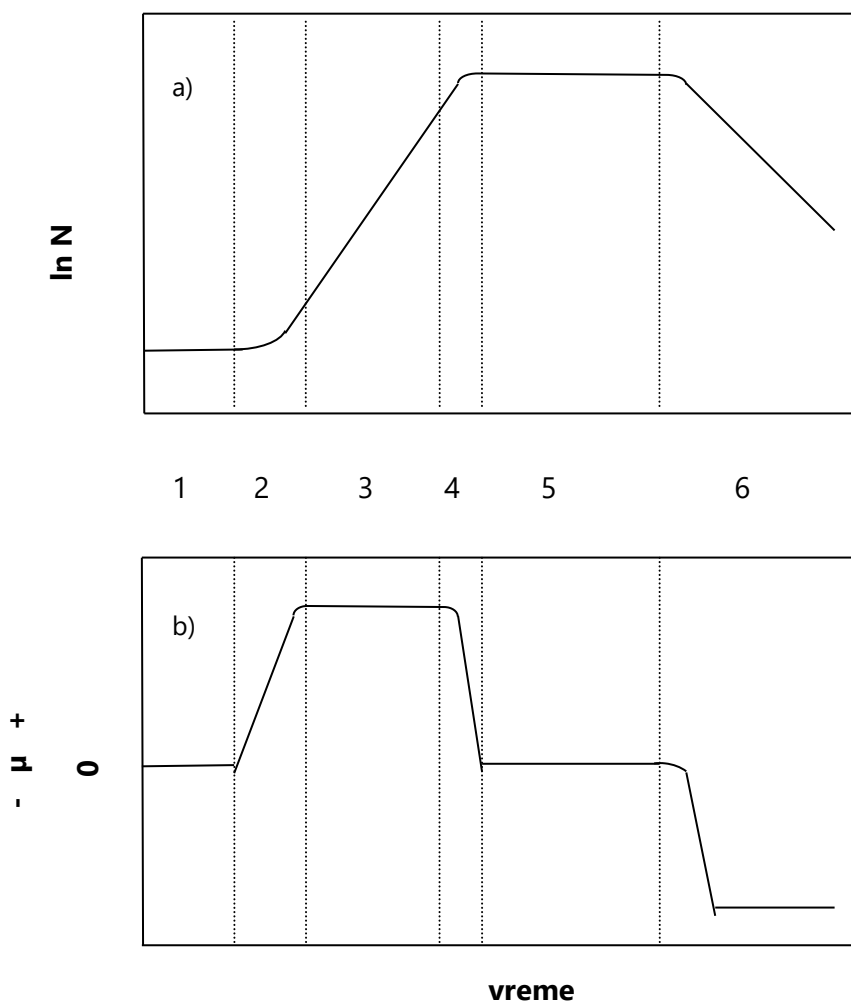
3.2.1. Šaržne kulture

Najčešće primenjivani tip kultura predstavljaju šaržne kulture koje se u širokoj upotrebi zbog njihove jednostavnosti i niske cene. Podrazumevaju jedan zatvoren sistem ograničene zapremine, gde ne postoji ni unos ni eliminacija materijala, odnosno resursi su u ovakvom jednom sistemu ograničeni. U ovom tipu kulture gustina ćelija se konstantno povećava sve dok ne dođe do iscrpljivanja određenog limitirajućeg faktora. Istovremeno sa rastom kulture nutritivne komponente u podlozi se smanjuju. Svaki produkt nastao tokom rasta i metaboličke aktivnosti kulture povećava koncentraciju podloge. Kada se svi raspoloživi resursi iskoriste kultura ugiba ukoliko se ne osveži novom hranljivom podlogom. To se može najjednostavnije postići formiranjem subkultura, tako što se mala količina inokuluma kulture presejava u veću zapreminu sveže hranljive podloge.

Šaržne kulture su veoma dinamični sistemi, u kojima polulacija ispoljava tipičan obrazac rasta u skladu sa sigmoidnom krivom. Takva kriva rasta podrazumeva sukcesiju šest faza koje se karakterišu odgovarajućim varijacijama u stopi rasta (Slika 20; Tabela 3).

Kao što kriva rasta prikazuje (Slika 20a), nakon inokulacije rast kulture ne mora odmah da se javi, jer mnoge ćelije iako su vijabilne nisu u stanju da se umnožavaju. Interval koji je

neophodan za ćelije da se adaptiraju novim uslovima i da počnu da rastu je prva faza krive rasta, **lag faza** (1). Ova faza može relativno dugo da traje ukoliko se ćelije algi i cijanobakterija prebacuju sa čvrste u tečnu hranljivu podlogu. Ukoliko se inokulacija vrši algalnim kulturama koje su u eksponencijalnoj fazi rasta, tada lag faza traje znatno kraće. Lag faza se karakteriše fiziološkim adaptacijama ćelijskog metabolizma za rast, kao što je povećanje nivoa enzima i metabolita koji su uključeni u ćelijsku deobu i fiksaciju ugljenika. Tokom ove faze, stopa rasta jednaka je nuli (Slika 20b).



Slika 20. Kriva rasta algalne populacije u uslovima kultivacije a) u šaržnoj kulturi i (b) odgovarajuće varijacije u stopi rasta

Nakon kratkog **perioda akceleracije** (2), koja se karakteriše kontinualnim povećanjem stope rasta sve do maksimalnog nivoa koji se postiže na kraju sledeće, **eksponencijalne faze** (3), tokom koje se gustina ćelija povećava u funkciji vremena u skladu sa eksponencijalnom funkcijom:

$$N_2 = N_1 \cdot e^{\mu}$$

gde N_2 i N_1 predstavljaju broj ćelija pri dva sukcesivna vremena a μ je stopa rasta. Tokom ove faze postignuta stopa rasta je konstantna. Stopa rasta umnogome zavisi od algalne kulture (vrste, soja) i parametara kultivacije (temperature, svetlost, koncentracija i dostupnost nutrijenata). Eksponencijalna faza rasta traje relativno kratko usled toga što ćelije počinju da zaklanjaju jedne druge zbog povećanja njihove gustine u medijumu. Time započinje sledeća **faza usporavanja** (4) kada stopa rasta opada zbog navedenih faktora koji limitiraju rast kulture. Sledeći ovu fazu, ćelijska populacija nastavlja da raste, međutim stopa rasta opada dostižući nulu, kada kultura ulazi u **stacionarnu fazu rasta** (5). Tokom stacionarne faze rasta koncentracija ćelija ostaje konstantna pri maksimalnoj vrednosti. Poslednja faza rasta kulture (6) označava se kao **faza odumiranja** i karakteriše se negativnom stopom rasta (Slika 20b). Tokom ove faze kvalitet podloge se narušava sa jedne strane zbog nagomilanih metabolita, a sa druge strane zbog smanjenja koncentracije nutrijenata do nivoa koji više ne podržava rast. Gustina ćelija drastično i brzo opada i kultura na kraju propada. Trajanje stacionarne faze i stope opadanja zavise pre svega od vrste odnosno soja.

Tabela 3 Faze rasta kultura algalne populacije u šaršnim uslovima kultivacije

Faza	Rast	Stopa rasta	Opis
1	Lag	Nula	Fiziološka adaptacija inokuluma (ćelija kulture) na nove uslove sredine
2	Ubrzan	Rastuća	Povećanje gustine ćelija
3	Eksponencijalni	Konstantna	Rast populacije uslovljava promenu okruženja za ćelije
4	Usporen	Opadajuća	Javljanje se efekti promena uslova sredine
5	Stacionarni	Nula	Jedan ili više faktora rasta su iscrpljeni
6	Opadajući	Negativna	Broj ćelija opada

U uspešnoj algalnoj kultivaciji i produkciji ključno je održavanje svih kultura u eksponencijalnoj fazi rasta. Pri tom treba imati na umu da je nutritivna vrednost algi smanjena kada kultura pređe u fazu 4 zbog smanjene digestije, neadekvatnog sastava i moguće proizvodnje toksičnih metabolita.

Šaršne kulture su u širokoj upotrebi zbog njihove jednostavnosti i fleksibilnosti sistema.

3.2.2. Kontinualne kulture

Kontinualne kulture predstavljaju sisteme za kultivaciju u kojima su raspoloživi resursi potencijalno neograničeni: kulture se održavaju u izabranoj fazi (ili odgovarajućoj tački) krive rasta redovnim dodavanjem sveže hranljive podloge u sistem. To podrazumeva da se odgovarajuća zapremina sveže podloge dodaje brzinom proporcionalnoj stopi rasta algalne kulture, dok se podjednaka zapremina kulture izdvaja sa druge strane sistema. Ovaj metod kultivacije podrazumeva održavanje kultura veoma blizu maksimalne stope rasta, s obzirom da tokom kultivacije ne dolazi do iscrpljivanja nutrijenata.

Kontinualne kulture se široko primenjuju za gajenje mikrobnih kultura koje se koriste kako u industriji tako i u različitim istraživanjima. U takvim sistemima je omogućeno da ćelije dostignu stabilno stanje rasta i umnožavanje ćelija gde stopa rasta i ukupan broj ćelija po mililitru kulture ostaju konstantni.

Prema Fogg i Thake (1987) postoje dve kategorije kontinualnih kultura:

1. **Turbidostatske kulture** u kojima se sveža hranljiva podloga dodaje kada gustina ćelija kulture postigne unapred određenu tačku rasta, što se određuje preko ekstinkcije svetlosti koja prolazi kroz kulturu. Sveža podloga se dodaje u kulturu u zapremini koja je jednaka zapremini kulture koja se uklanja.
2. **Hemostatske kulture** su one u koje se sveža hranljiva podloga dodaje u momentu kada je kultura u stabilnom stanju, pri unapred određenoj stopi rasta. Pri tom se kao poslednji dodaje određeni limitirajući vitalni hranljivi sastojak (kao što je npr. azot) fiksnom brzinom i za to vreme stopa rasta, a ne gustina ćelija, treba da ostaje konstantna. U hemostatskoj kulturi dodatak podloge određuje stopu rasta i gustinu ćelija.

Brzina protoka medijuma u sistem kontinulane kulture se naziva **stopa (brzina) razblaživanja**. Kada broj ćelija u kulturi ostaje konstantan tokom dužeg vremena, stopa razblaženja jednaka je brzini ćelijskih deoba u kulturi. Osnovna prednost kontinulanih kultura se sastoji upravo u tome što stopa (brzina) razblaživanja kontroliše brzinu mikrobnog rasta preko koncentracije nutrijenata koji su neophodni za rast kulture. Sve dok je stopa razblaženja niža od maksimalne stope rasta (karakteristične za određenu vrstu), gustina ćelija će se povećavati do tačke pri kojoj stopa (brzina) ćelijskih deoba ("natalitet") tačno odgovara stopi (brzinu) izdvajanja ćelija ("mortalitet"). Ovo stanje stabilne gustine ćelija se takođe karakteriše konstantnošću svih metaboličkih parametara i parametara rasta

kulture. Međutim, ukoliko stopa razblaženja prelazi maksimalnu stopu ćelijskih deoba, tada se ćelije brže uklanjaju nego što se produkuju, tako da na kraju dolazi do potpunog ispiranja celokupne populacije.

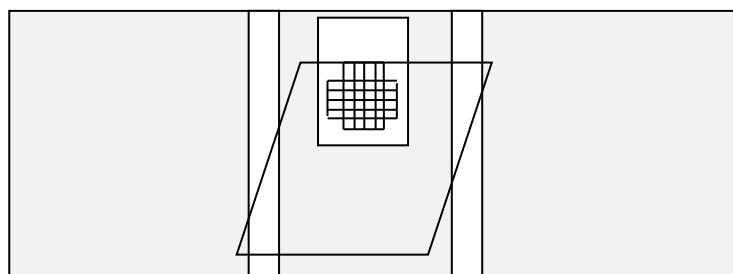
Prednosti primene kontinulanih kultura se sastoje u tome što takvi sistemi obezbeđuju produkciju algi predvidljivog kvaliteta, što je sistem pod pouzdanom tehnološkom kontrolom i što postoji mogućnost automatizacije čitavog procesa. Osnovni nedostaci kontinulanih kultura se pre svega ogledaju kroz relativno visoke troškove i kompleksnost čitavog sistema.

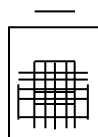
3.2.3. Semi-kontinualne kulture

Semi-kontinualne kulture podrazumevaju sisteme u koje se sveža hranljiva podloga dodaje u kulturu jednom, jedostavnim otvaranjem posude za gajenje na liniji za dodavanje podloge. Svež medijum se uliva u posudu za kultivaciju, a istrošena kultura se odvaja u posudu koja služi kao kolektor. Nakon što je podloga dodata u kulturu, ventil na posudi se zatvara i kultura se ostavlja da raste 24h, kada se isti postupak ponavlja. Semi-kontinualne kulture omogućavaju produženu upotrebu kultura velikih zapremina parcijalnim periodičnim sakupljanjem kulture uz istovremeno dopunjavanje podloge do prvobitne zapremine i dodavanjem hranljivih sastojaka za postizanje prvobitnog nivoa obogaćenja. Ove kulture mogu biti otvorene ili zatvorene, ali je njihovo trajanje obično nepredvidljivo. Sa tog aspekta problem predstavlja pojava kompetitora, kontaminanata i nepoželjnih metabolite koji kulturu mogu učiniti neupotrebljivom.

3.2.4. Parametri rasta kultura u kolekciji

Osnovni parametri rasta kulture pored krive rasta su **brojnost/gustina ćelija**, **stopa rasta** i **generacijsko vreme**. Kvantitativna determinacija gustine ćelija zahteva brojanje ćelija u odgovarajućim komorama za brojanje uz primenu mikroskopa (svetlosni, fazno-kontrastni ili invertni). Za brojanje ćelija u mešovitim uzorcima moguće je primeniti Sedgewick-Rafter-ovu komoru za brojanje ili Utermohl-ovu komoru. Za unialgalne kulture najčešće se koriste Thom-ova, Fuchs-Rosenthal-ova ili Burker-ova komora za brojanje gustine ćelija. Thom-ova komora je prvobitno bila namenjena za brojanje eritrocita u hematološkim analizama zbog čega je poznata i pod nazivom hemocitometar. Komora se sastoji od staklene pločice na kojoj je ugravirana mreža (Slika 21). Svaka mreža se sastoji od 16 polja čije su stranice 0,2mm i koja je odvojena sa tri granične linije. Tih 16 polja su takođe podeljeni na 16 manjih površina što ukupno čini 256 polja za brojanje.





Slika 21. Šematski prikaz Thom-ove komore za brojanje

Komora je duboka 0,1 mm tako da svaka mreža sadrži tačno $64 \cdot 10^{-3}$ ml uzorka. Postoji mogućnost da se brojanje ćelija vrši u celoj mreži, da se brojanje vrši samo u jednom od 16 kvadrata i da se potom dobijena vrednost pomnoži sa 16, ili da se brojanje vrši na još manjoj površini i da se potom dobijeni broj shodno tome multiplicira. Ukoliko se brojanje ćelija vrši u čitavoj mreži (16 polja), tada se koncentracija ćelija određuje prema sledećoj formuli:

$$\text{Broj ćelija ml}^{-1} = C \cdot 10^3 / 64$$

gde je C broj prebrojanih ćelija.

U cilju dobijanja preciznijih rezultata poželjno je da brojnost ćelija po polju bude oko 30. Ukoliko se dobije mnogo veći broj, tada bi trebalo uzorak razblažiti, pri čemu se primenjeno razblaženje uzima u obzir pri preračunavanju konačnog broja ćelija. Ćelije koje se nalaze na graničnim linijama mreže ili polja se uzimaju u obzir, ali tako da se broje samo one koje se nalaze na desnim i gornjim linijama, dok se one koje su na levim i donjim graničnim linijama ne broje. Potrebno je brojanje ćelija ponoviti najmanje deset puta u cilju preciznijeg određivanja srednje vrednosti. Za brojanje ćelija unialgalnih kultura moguće je primeniti i napredniju metodu kao što je primena elektronskog brojača čestica (kao što je Coulter-ov brojač) i digitalni mikroskop sa kamerom. Ovaj instrument pruža, osim broja ćelija, podatke i o veličini čestica/raspodeli biovolumena.

Krive rasta se formiraju na osnovu podataka o brojnosti ćelija koje su dobijene u uzorcima kultura uzetih u odgovarajućim vremenskim intervalima (npr. 1 dan, 3 dana, 7 dana) u zavisnosti od stope rasta alge. Time se dobijaju grafikoni broja ćelija u odnosu na vreme (izraženo u danima), pri čemu se sa takvih kriva mogu izračunati i drugi važni parametri rasta, kao što su specifična stopa rasta kulture ili konstanta rasta (μ) kao i vreme udvajanja ili generacijsko vreme (T_g). Stopa rasta (μ) se izračunava po sledećoj jednačini:

$$\mu = \ln N_2 / N_1 / (t_2 - t_1)$$

gde su N_2 i N_1 brojnosti ćelija pri vremenu t_2 i t_1 .

Ukoliko je N_2 je dva puta N_1 , onda se stopa rasta može izraziti sledećom formulom:

$$\mu = \ln(2) / T_g$$

S obzirom na to da $\ln(2)$ iznosi 0,6931, generacijsko vreme se može izračunati po sledećoj formuli:

$$T_g = 0,6931 \cdot \mu^{-1}$$

3.3. Značaj formiranja kolekcija kultura

Kolekcije kultura cijanobakterija i algi su neophodan element u obezbeđivanju biološkog referentnog materijala za potrebe realizacije naučno-istraživačkih studija, biotehnoloških i bioindustrijskih procesa. Takođe se smatraju važnim centrima za očuvanje biodiverziteta i prirodnih resursa *in situ* i *ex situ*.

Značaj formiranja kolekcija kultura cijanobakterija i mikroalgi je prema tome višestruk i ogleda se kroz:

- a) očuvanje odnosno konzerviranje biodiverziteta u vremenu i prostoru;
- b) snabdevanje zainteresovanih institucija i pojedinaca čistim, autentičnim kulturama;
- c) obezbeđivanje kontinualnog rasta kolekcije kroz izolaciju novih sojeva i samostalnih uloga od strane drugih istraživača;
- d) razvijanje novih metoda kultivacije, selekcije i eksploatacije kultura;
- e) promociju biotehnološke primene kultura cijanobakterija i mikroalgi;
- f) predstavljaju značajan izvor novih genetskih informacija - DNK biblioteke;
- g) pružanje usluga konsaltinga.

Osnovni cilj kolekcija kultura je zaštita i dugoročno održavanje sojeva u izvornom, stabilnom obliku u odgovarajućim uslovima bez gubljenja kvaliteta i određenih svojstava kako bi kao referentne kulture mogle biti na raspolaganju za istraživanja i različite industrijske procese. To pre svega podrazumeva tri osnovna parametra koja je neophodno ispuniti: 1. aksonost (odsustvo kontaminanata), 2. autentičnost (tačno određena taksonomska pripadnost) i 3. stabilnost kultura.

Kolekcije kultura predstavljaju specijalizovane zbirke (banke, biblioteke) u kojima se gaje, čuvaju, selekcionišu i koriste živi mikroorganizmi i njihovi metaboliti. Formiranje kolekcija kultura cijanobakterija i mikroalgi podrazumeva metode uzorkovanja, izolacije, determinacije, purifikacije, kultivacije i prezervacije sojeva. Moguće je razlikovati nekoliko osnovnih načina kultivacije i tipova kultura: otvoreni sistemi za kultivaciju (ne-aksoni koji su značajno većeg obima, teži za kontrolisanje, neujednačenog kvaliteta finalnog proizvoda, jeftiniji) i zatvoreni (aksoni, manjeg obima, strogo kontrolisani, ujednačenog kvaliteta, skuplji) sistemi za kultivaciju. U svetskim kolekcijama najčešće su u upotrebi sledeći tipovi kultura: šaržne ("batch"), kontinualne i semikontinualne kulture. Osnovni parametri rasta kultura cijanobakterija i algi pored krive rasta su brojnost/gustina ćelija, stopa rasta i

generacijsko vreme. Kolekcije kultura cijanobakterija i algi su neophodan element u obezbeđivanju biološkog referentnog materijala za potrebe realizacije naučno-istraživačkih studija, biotehnoških i bioindustrijskih procesa, kao i važni centri za očuvanje biodiverziteta i prirodnih resursa *in situ* i *ex situ*.

Literatura:

1. Andersen A. Robert (2005): Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, UK, ISBN: 0-12-088426-7, p.578.
2. Barsanti Laura and Gualtieri Paolo (2006): Algae – Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. CRC Press Taylor and Francis Group, ISBN 10 0-8493-1467-4, str. 301.
3. Day J.G., Fleck R.A., Benson E.E. (1999): Cryopreservation-recalcitrance in microalgae: novel approaches that may identify and avoid cryo-injury. 8th International Conference on Applied Algology, Montecatini Terme, Italy, Book of abstracts, 96.
4. Day, J.G. & Stacey, G. (2006) Cryopreservation and Freeze-drying Protocols, 2nd ed. Springer, ISBN 1597453625, 9781597453622.
5. Day, J. G., Conservation strategies for algae, in: Benson, E. E., Ed., Plant Conservation Biotechnology, Taylor and Francis Ltd., London 1999, pp. 111–124.
6. Fogg, G. E., and Thake, B., Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. University of Wisconsin Press, Madison, 1987
7. Gantar M. (1985): Masovno gajenje mikroalgi, očekivanja i mogućnosti. Mikrobiologija, 22 (2): 189-204.
8. Labeda D.P. (2001). Culture Collections: An Essential Resource for Microbiology. In:
9. D. R. Boone et al. (eds.), 111 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Springer Science Business Media, New York 2001, p. 111-113.
10. OECD (2007). Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres. http://www.oecd.org/document/36/0,3343,en_2649_34537_38777060_1_1_1_1,00.html.
11. Rippka R., Deruelles J., Waterbury J.B., Herdman M., Stanier R.Y. (1979): Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. 111: 1-61.
12. Rippka R. (1988a): Recognition and identification of Cyanobacteria. Methods in enzymology, 167: 28-67.
13. Rippka R. (1988b): Isolation and purification of Cyanobacteria. Methods in enzymology, 167: 3-27.
14. Simeunović J. (2005): Kolekcija kultura cijanobakterija. Biblioteka ACADEMIA, Zadužbina Andrejević, Beograd, ISBN 86-7244-479-5, str.102.

3. KOLEKCIJE KULTURA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

15. Vonshak (1986): Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: CRC Handbook of microalgal mass culture, A. Richmond (ed). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, p. 117-145.
16. World Federation for Culture Collections guidelines (2010) 3rd Edition, <http://www.wfcc.info/guidelines/>.

4. PRODUKTI CIJANOBAKTERIJA I ALGI I NJIHOVA BIOTEHNOLOŠKA PRIMENA

Čovek je hiljadama godina koristio alge kao hranu, lekove i fertilizatore. Drevni nalazi ukazuju na to da su ljudi sakupljali makroalge za ishranu 500 godina pre nove ere u Kini, a hiljadu godina kasnije u Evropi. Mikroalge, kao što je *Spirulina* (*Arthrospira*), imaju dugu tradiciju korišćenja kao hrane u Meksiku i Africi. U 14. veku su drevni Asteci koristili spirulinu iz jezera Texcoco za pripremanje posebne vrste suvog kolača *tecuitlatl*. U Africi oko jezera Čad se spirulina koristi za ishranu (kolač *dihe*) još od perioda Kanemskog carstva (9. vek nove ere). U današnje vreme se alge takođe proizvode i reklamiraju kao funkcionalna hrana odnosno nutraceutici, što podrazumeva hranu koja sadrži bioaktivna jedinjenja ili fitohemikalije koje pored nutritivnog imaju i zdravstveni značaj. Trenutno se 42 kompanije u svetu bave komercijalnom proizvodnjom makroalgi, a među njima su u tome lideri Kina, Severna i Južna Koreja, Japan, Filipini, Čile, Indonezija, Norveška, Indija, USA. Tih deset kompanija doprinose sa 95% svetske komercijalne proizvodnje makroalgi, od kojih se najviše uzgajaju i koriste mrke (6 miliona tona), zatim crvene (3 miliona tona) i zelene alge (100000 tona). Posebno se u tom pogledu koriste mrke alge (*Laminaria*, *Porphyra*, *Undaria*) i crvene alge (*Gracilaria*, *Porphyra*, *Chondrus*). Najznačajnija među njima je crvena alga *nori* (vrste roda *Porphyra* posebno *P. yezoensis*) koja ima široku upotrebu u Japanu, Kini i Pacifiku. Što se tiče mikroalgi one se uglavnom kultivišu u cilju dobijanja biomase kao hrane ili kao dodataka ishrani. Za komercijalnu proizvodnju mikroalgi najviše se u svetu koriste zelene alge, kao što su *Chlorella*, *Chematococcus* i *Dunaliella* i cijanobakterije *Arthrospira* (*Spirulina*) i *Nostoc*. Mikroalge su bogat izvor visoko vrednih jedinjenja poput proteina, pigmenata, vitamina, masnih kiselina, zbog čega se koriste za proizvodnju nutraceutika značajnih za prehrambenu industriju, farmaceutika za farmaceutsku industriju i drugih bioaktivnih jedinjenja za biomedicinsku primenu, kozmetičku industriju, poljoprivredu i dr.

Postoje brojni dokazi o zdravstvenim benefitima koje može da obezbedi hrana na bazi algalne biomase. Međutim u ovoj oblasti takođe postoje i brojna pitanja i nedoumice. Prvo se odnosi na nutritivnu kompoziciju različitih algalnih vrsta poreklom iz različitih geografskih regiona, što značajno može uticati na nutritivnu vrednost alge. Drugo važno pitanje odnosi se na identifikaciju, kvantifikaciju i bioraspoloživost (biodostupnost) frakcije algalne biomase koja je namenjena za ljudsku ishranu. Treće pitanje podrazumeva utvrđivanje i razumevanje na koji način nutritivni i funkcionalni sastojci algi interaguju sa humanim metabolizmom, kakva je njihova fiziološka aktivnost (bioaktivnost) i koji su mogući neželjeni efekti.

4.1. Primena cijanobakterija i algi u ishrani

4.1.1. Cijanobakterije

Među cijanobakterijama najveći značaj i dugu tradiciju korišćenja za potrebe ishrane imaju predstavnici rodova *Nostoc* i *Spirulina*. Pojedine vrste roda *Nostoc* su regionalno korišćene kao hrana i za izdvajanje vrednih aktivnih sastojaka. Tako se vrsta *Nostoc spheroides* poznata pod nazivom *Ge-Xian-Mi*, kao delikates koristila hiljadama godina u oblasti Hubei u Kini. Suva masa ove cijanobakterije se i danas koristi kao prilog različitim jelima i kao dodatak za zgušnjavanje. Druga vrsta *Nostoc flagelliforme* poznata pod nazivom *facai*, se u Kini koristi skoro 2000 godina kao hrana (podaci iz perioda dinastije Jin, 265-316 g.n.e svedoče o tome), jer se smatra delikatesom sa posebnim medicinskim značajem i visokom ekonomskom vrednošću. Zbog intenzivne eksploatacije, Ministarstvo za zaštitu životne sredine Kine stavilo je 1999. godine ovu vrstu na listu zaštićenih vrsta.

Spirulina (*Arthrospira*) ima dugu tradiciju korišćenja u ljudskoj ishrani, posebno vrste *Arthrospira platensis* i *A. maxima*. Asteci su sakupljali ovu cijanobakteriju iz jezera Texcoco i pravili suvi kolač *tecuatl* koji su prodavali širom Meksika, a konzumirali su ga uz druge namirnice. Spirulina se koristila a i danas se koristi za ishrani u Africi u plemenu Kanembu koje živi u blizini jezera Kossorum i Čad. Vlažnu biomasu cijanobakterija iz jezera sakupljaju isključivo žene, zatim se biomasa ostavlja u posebna udubljenja u zemljištu (40-50 cm širine i 5 cm dubine) obložena finim slojem čistog peska da se suše na suncu, čime se dobija osušeni kolač *dihe*. Tradicija pravljenja ovog kolača se prenosi sa generacije na generaciju, a godišnje se iz jezera sakupi i pripremi oko 40 tona *dihe* kolača (u vrednosti oko 100000 dolara). Osim u ishrani, *dihe* se koristi kao lek za zarastanje rana, kao obloge za ublažavanje bola i smanjivanje otoka.

Spirulina se još naziva i super-hrana zbog svojih visoko vrednih nutritivnih i lekovitih sastojaka. Biomasa ove cijanobakterije je bogata proteinima (55-60% suve mase) i esencijalnim amino-kiselinama. Fikobiliproteini čine značajan udeo proteina, naročito plavi pigment fikocijanin (7-13%). Osim toga biomasa spiruline je bogata ugljenim hidratima (10-20% suve mase), mastima (9-14% suve mase), od kojih su posebno značajne polinezasićene masne kiseline poput gama-linoleinske i eikozapentaenske kiseline. Udeo mineralnih materija se kreće od 6 do 9%, pri čemu su najzastupljeniji K, P, Na, Ca, Mn i Fe. Osim toga spirulina sadrži i vitamine A, B i C. Smatra se da je unos od 5 gr *dihe* kolača dovoljno da se obezbedi dnevna preporučena doza vitamina A. Najznačajniji komercijalni proizvođači cijanobakterijske biomase, posebno spiruline i proizvoda na bazi spiruline su Kina, Japan i Indija.

4.1.2. Crvene alge

U ljudskoj ishrani se najčešće od crvenih algi koriste predstavnici koji pripadaju rodovima *Porphyra*, *Palmaria* (*Rhodimentia*), *Chondrus*, *Gracilaria* i *Callohyllis*.

Porphyra je najznačajnija i najšire korišćena, a poznata je pod različitim nazivima u zemljama Azije gde se najviše i konzumira (*nori* u Japanu, *kim* u Korei, *zicai* u Kini). Ova alga je izuzetno bogata proteinima (25-50%), jodom, mineralima i dijetetskim vlaknima. Ima nizak sadržaj šećera (0,1%), a visok sadržaj vitamina, posebno vitamina A, kompleks vitamina B i vitamina C. Karakterističan ukus norija je posledica visokog sadržaja tri aminokiseline: alanina, glutaminske kiseline i glicina. Takođe sadrži i taurin, za koji je poznato da utiče povoljno na nivo holesterola u krvi. Osim toga *Porphyra* se komercijalno proizvodi i zbog bogatog sadržaja crvenog pigmenta R-fokoeritrina, koji osim u prehrambenoj industriji ima značajnu primenu u medicini kao fluorescentna boja. Ova alga se još od 17. veka kultiviše u Japanu, Republici Koreji i Kini, međutim danas se osim tih zemalja proizvodnjom porfire bave i druge zemlje širom sveta, SAD, Kanada, Havaji, Novi Zeland, Velika Britanija. Posebno su značajne vrste *P. abbottae*, *P. torta*, *P. umbilicalis*. Proizvodnja sveže biomase makroalgi u Japanu dostiže 600000 tona godišnje, od čega 75% čini *nori* (vrednosti oko 1500 miliona dolara).

Listoliki delovi crvene alge ***Palmaria palmata*** poznate pod nazivom *dulse*, koriste se u ishrani kao salata posebno u Severnoj Americi, Kanadi, Britaniji, Irskoj i Islandu. *Dulse* je alga bogata mineralima koji su neophodni ljudskom organizmu, posebno gvožđem. Komercijalno se proizvodi u Kanadi pod nazivom "morski peršun".

Irska mahovina - ***Chondrus crispus***, ima dugu istoriju korišćenja u ishrani ljudi, naročito u Irskoj i drugim evropskim priobalnim zemljama. Bogata je polisaharidima, posebno karagenanom, zbog čega se koristi za zgušnjavanje hrane i pripremu želea. Osim toga ima izuzetan medicinski potencijal jer povoljno deluje na eliminaciju sekreta tokom infekcije respiratornog trakta.

Gracilaria se desetinama godina sakuplja i prodaje kao salata na Havajima pod nazivom *ogo*, *ogonori* ili "morska mahovina". Za ovu algu se smatra da ima svojstva afrodizijaka, a koristi se i kao baza za bezalkoholna pića. Sadrži oko 7% proteina, oko 25% sirovih vlakana, oko 3% lipida, 29% vitamina C po 100 gr vlažne mase, 5,2% beta karotena na 100 gr suve mase što odgovara aktivnosti vitamina A od 865 µg, zbog čega se smatra izuzetnim izvorom ovog vitamina za ljudsku ishranu.

Callophyllis variegata je vrsta koja je posebno popularna u Čileu, gde se od 1995. godine intenzivno proizvodi zbog visoke komercijalne vrednosti (1 kg suve mase košta oko 30 dolara).

4.1.3. Mrke alge

Predstavnici mrkih algi koji se intenzivno koriste u ishrani su vrste rodova *Alaria*, *Laminaria*, *Undaria*, *Hizikia*, *Cladosiphon*.

Alaria esculenta je vrsta, poznata još pod nazivom "krilati kelp", koja se javlja u sublitoralnoj zoni hladnih mora u oblastima Irske, Škotske, Islanda, Norveške, Nove Škotske, Sahalina i Japana. Bogata je proteinima i vitaminima, posebno nijacinom, zbog čega se i preporučuje za ishranu.

Laminaria japonica je vrsta koja je poreklom i tradicionalno se uzgaja u Japanu i Severnoj Koreji još od 1730. godine. Međutim, danas je Kina najveći proizvođač sa 5 miliona tona godišnje i najveći izvoznik ove alge na tržište. U Kini je pedesetih godina prošlog veka razvijen metod za kultivaciju roda *Laminaria* koji podrazumeva da se "sadnice" gaje u hladnoj vodi u staklenicama i kasnije se prenose na dugačke kanape u okean. Najveći region Kine u kojem se uzgaja *Laminaria* je Žuto more. Ova mrka alga je u Kini poznata pod nazivom *haidai* i smatra se zdravom hranom zbog svog nutritivnog sadržaja.

U Japanu se u ishrani najčešće koristi mešavina vrsta roda *Laminaria* (*L. japonica*, *L. longissima*, *L. angustata*, *L. coriacea*, *L. ochotensis*) poznata pod nazivom *kombu*. Za razliku od Kine u kojoj postoji intenzivno uzgajanje laminarija, u Japanu su dve trećine poreklom i sakupljaju se iz prirodnih izvora. Potrebno je 20 meseci rasta da bi se alga mogla sakupljati, jer je neophodno da prođe kroz ceo životni ciklus. Postoje međutim i određene oblasti u Japanu koje se bave kultivacijom i to su uglavnom u vodama između ostrva Honšu i Hokaido. Vrste roda *Laminaria* sadrže oko 10% proteina, 2% masti i korisne količine vitamina, minerala, naročito gvožđa i joda, zbog čega se smatraju nutritivno vrednom hranom.

Jedna od najčešće uzgajanih mrkih algi na Dalekom Istoku (Japan, Severna Koreja i Kina) je vrsta ***Undaria pinnatifida***. Ova vrsta ima sličan razvojni ciklus kao i *Laminaria* i na sličan način se i uzgaja u okviru vodenih farmi (akvakultura). *Undaria* se koristi za dobijanje različitih prehrambenih proizvoda. Najpoznatiji proizvod se dobija sušenjem na suncu ili toplim vazduhom i poznat je pod nazivom *suboshi wakame*. Takva osušena biomasa još uvek sadrži aktivne enzime. U cilju njihove inaktivacije sveži filoidi se mešaju sa pepelom od drveta, tako da alkalitet pepela inaktivira enzime. Nakon nekoliko dana držanja u mraku, kelp se ispira morskom vodom, zatim se slatkom vodom odstranjuje so i pepeo i alga se ostavlja da se suši. Proizvod dobijen na ovakav način je poznat pod nazivom *haiboshi wakame*. Međutim, najznačajniji i najpopularniji za konzumiranje je proizvod poznat kao *slani wakame*, koji se dobija usoljavanjem dehidrisane biomase undarije. *Wakame* je izuzetna namirnica s obzirom da sadrži oko 16,3% proteina i sve esencijalne amino kiseline koje čine 47% od ukupnog sadržaja amino kiselina. Takođe je bogat izvor β -karotena (1,30

mg/100 gr.s.m.), joda (26 mg/100 gr.s.m.), vitamina (B1, B2, B3, B6) minerala (K, Na, Ca, Mg, P, Fe i dr.).

Hizikia fusiforme je još jedna mrka alga koja je veoma popularna hrana u Japanu i Republici Koreji, a poznata je pod nazivom *hiziki*. Kultivacija se u okviru farmi u vodi odvija na sličan način kao i vrste rodova *Undaria* i *Laminaria*. Sadržaj nutritivno važnih sastojaka je veoma sličan *kombu*, međutim u odnosu na *kombu* sadrži veću količinu gvožđa, bakra i mangana. Odlikuje se kao i ostale mrke alge niskim sadržajem lipida (1,5%), međutim sadržaj eikozapentaenske kiseline je veoma visok (20-25% od ukupnog sadržaja masnih kiselina).

U Japanu se oko ostrva Okinava proizvodi još jedna značajna vrsta za ishranu, ***Cladosiphon ocamuranus***, koja se konzumira kao *mozuku*.

4.1.4. Zelene alge

Najznačajniji rodovi zelenih makroalgi koji se koriste u ishrani su *Ulva*, *Enteromorpha*, *Monostroma*, *Caulerpa*, dok se mikroalge poput rodova *Chlorella* i *Dunaliella* koriste za dobijanje suve biomase ili za izdvajanje bioaktivnih jedinjenja.

Ulva sp. poznata još pod nazivom morska salata, je alga koja se odlikuje bogatim sadržajem proteina, dijetetskih vlakana (4-44%), ugljenih hidrata (15-65%), vitamina, posebno vitamina B3 (nijacin). Osim toga značajni su i sulfovani polisaharidi ulvani, čiji sadržaj varira u zavisnosti od vrste u opsegu 8-29% suve mase alge. U Azijskoj kulturi se ova alga koristi ne samo u ishrani ljudi i životinja, već i u tradicionalnoj medicini i poljoprivredi.

Zelene alge roda *Enteromorpha* koje su posebno cenjene u ljudskoj ishrani su ***E. intestinalis*** i ***E. prolifera***. Obe vrste se mogu osim u marinskim sredinama naći i u brakičnim vodama širom sveta. U nutritivnom pogledu se karakterišu visokim sadržajem proteina (20%), gvožđa, kalcijuma, a niskim sadržajem lipida i natrijuma. Sadržaj vitamina B kompleksa je veći u poređenju sa mnogim vrstama povrća, a pored toga sadrži i značajne količine vitamina A. Komercijalno se proizvodi u akvakulturi - marinskim farmama u Japanu, Republici Koreji, Južnoafričkoj Republici, Izraelu, Brazilu.

Monostroma latissimum je zelena alga koja se komercijalno proizvodi uglavnom u Japanu u akvakulturi pod nazivom *aonori*. Godišnja proizvodnja iznosi oko 15000 tona. Nastanjuje plitke vode do 1 m, a često raste i kao epifita u vidu obraštaja na vodenim biljkama i životinjama. Prosečan sadržaj proteina u suvoj masi je oko 20%, a pored toga sadrži i značajne količine vitamina i minerala.

Caulerpa lentillifera i ***C. racemosa*** su zelene alge koje se koriste u ljudskoj ishrani kao salata, a poznate su pod nazivima *morsko grožđe* ili *zeleni kavijar*. Najznačajniji proizvođači su Filipini sa godišnjim prinosom od 12-15 tona po hektaru (oko 400 hektara akvakulture).

4.2. Bioaktivna jedinjenja cijanobakterija i algi i njihova primena u medicini, farmaciji i kozmetici

Biohemijska heterogenost algi je izuzetno izražena i ogleda se kroz produkciju stukturno veoma različitih metaboličkih produkata (primarni i sekundarni metaboliti). Cijanobakterije i alge se smatraju izuzetno bogatim izvorom **biološki aktivnih metabolita (BAM)** koji kao terapijski agensi mogu imati značajnu primenu u farmaciji, medicini i kozmetici. Brojne studije ukazuju na ogroman diverzitet takvih prirodnih produkata i u strukturnom i u funkcionalnom pogledu. S obzirom na hemijsku prirodu i strukturu, takvi metaboliti pripadaju proteinima/peptidima, polisaharidima, masnim kiselinama, alkaloidima, fenolima, terpenima, terpenoidima, laktonima. U funkcionalnom pogledu i aktivnosti koju ispoljavaju oni se svrstavaju u antioksidativna, antimikrobna, antitumorska (citotoksična), imunomodulatorna, neuroprotektivna, antiinflamatorna jedinjenja. Biološki aktivna jedinjenja se mogu proizvoditi tokom primarnog metabolizma, međutim češće se proizvode u stacionarnoj fazi rasta kulture tokom sekundarnog metabolizma (sekundarni metaboliti).

4.2.1. Antioksidativna jedinjenja poreklom iz algi

Reaktivne kiseonične vrste (ROS) odnosno **slobodni kiseonični radikali** (vodonik peroksid (H_2O_2), superoksidni anjon (O_2^-), hidrosil radikal (OH^-), hidroperoksil radikal (HO_2), singletni kiseonik (1O_2)), predstavljaju produkte aerobnog metabolizma i potentni su agensi koji uzrokuju oksidativna oštećenja u ćelijama i tkivima. Predstavljaju neutralne intermedijerne čestice visoke reaktivnosti, koje nastaju raskidanjem kovalentnih veza (termički i fotolitički) i tako sadrže barem jedan nesporeni elektron. Oksidativna oštećenja u ćeliji izazvana reaktivnim kiseoničnim vrstama uzrokuju oksidativni stres koji može biti povezan sa nastankom preko 200 različitih bolesti. Za neutralisanje nagomilanih slobodnih radikala u ćeliji potrebna je određena količina antioksidanasa u cilju održavanja ravnoteže između prooksidanasa i antioksidanasa. Antioksidansi se kao prirodne ili sintetske supstance, dodaju proizvodima, sprečavaju ili odlažu njihovo propadanje uzrokovano kiseonikom iz vazduha i neutrališu oksidanse u ćeliji i/ili inhibiraju reakcije izazvane ROS-om.

Alge se smatraju bogatim izvorom prirodnih produkata sa antioksidativnim delovanjem. Osnovni mehanizmi delovanja antioksidanasa poreklom iz algi su enzimski degradacija

ROS-a, hvatanje slobodnih radikala (skevedžer aktivnost), helatori metala (Fe) i učešće u mehanizmima reparacije oštećenja nastalih usled delovanja ROS-a.

Antioksidativna jedinjenja algi obuhvataju dve osnovne grupe, enzimске i neenzimske antioksidanse. Enzimski obuhvataju enzime superoksid dismutazu (SOD), katalazu, glutation reduktazu, glutation peroksidazu, koji imaju manji značaj u praktičnoj primeni u odnosu na neenzimske antioksidanse. Enzimski antioksidansi obuhvataju metalo enzime koji pripadaju klasi oksido-redukcionih enzima i javljaju se i kod prokariotskih i kod eukariotskih algi. Obuhvataju primarni odbrambeni sistem (katalaza, superoksid-dismutaza, glutation-peroksidaza) i sekundarni odbrambeni sistem (glutacion-reduktaza, glukozo-6-fosfatdehidrogenaza). Biomasa i mikro i makroalgi predstavlja značajan izvor enzimskih antioksidanasa koji su našli primenu u medicini, farmaciji i kozmetici. U tom smislu su posebno značajne kao izvor katalaza vrste *Scytonema sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Nostoc cycadae*, *Aulosira sp.*, *Microcystis sp.*, *Chlamydomonas reinhardtii*, a kao izvor glutacion reduktaza *Anabaena sp.*, *Spirulina maxima*, *Nostoc muscorum*.

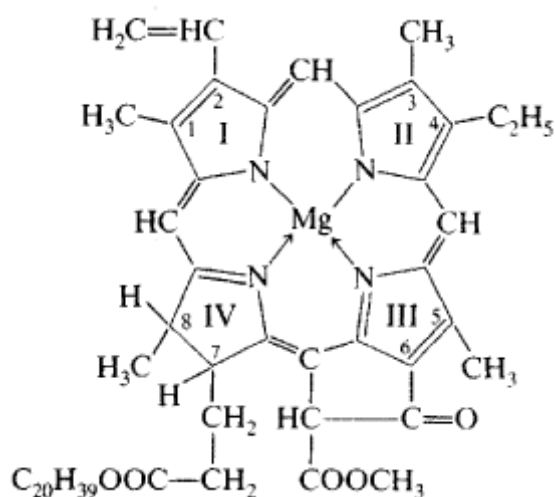
Znatno veći diverzitet u strukturnom pogledu karakteriše neenzimske antioksidanse algi u koje pre svega spadaju pigmenti, peptidi, fenoli i vitamini.

Pigmenti

Neenzimski antioksidansi su našli značajniju primenu pri čemu među njima posebno mesto zauzimaju pigmenti. U pigmentnom sastavu kod algi mogu biti prisutni hlorofili, karotenoidi, fikobiliproteini, scitonemini.

Hlorofili su pigmenti rastvorljivi u vodi, sadrže supstituisani porfirin tetrapirolov prsten sa centralnim jonom Mg^2 (Slika 22). Osetljivi su na delovanje određenih faktora poput temperature i pH koji mogu dovesti do stvaranja derivata hlorofila kao što je feofitin, koji ima izraženo antioksidativno delovanje. Aktivnost je usmerena na inhibiciju enzima lipoksigenaze (LOX) koja igra značajnu ulogu u razvoju neurodegenerativnih i upalnih procesa. Hlorofili su značajni i zbog toga što stimulišu transport kiseonika, odnosno utiču na bržu oksigenaciju ćelija i tkiva, posebno krvi. Pored toga studije su pokazale da hlorofili imaju višestruk pozitivan uticaj na zdravlje čoveka: utiču na produkciju eritrocita, učestvuju u procesu detoksifikacije, unapređuje zdravlje kože, stimulišu zarastanje rana, čira na želudcu, pomažu kod upalnih procesa, dijabetesa i dr.

Najznačajniji izvori hlorofila među algama su zelene alge, naročito rod *Chlorella* koji zbog visokog sadržaja hlorofila (do 7% suve mase) nosi naziv **smaragdna hrana**. Osim zelenih, značajne su i cijanobakterije, poput roda *Spirulina* kao i marinske mrke alge. Preparati koji se javljaju na tržištu obično sadrže mešavinu hlorofila, najčešće hlorofila a i b u odnosu 3:1.



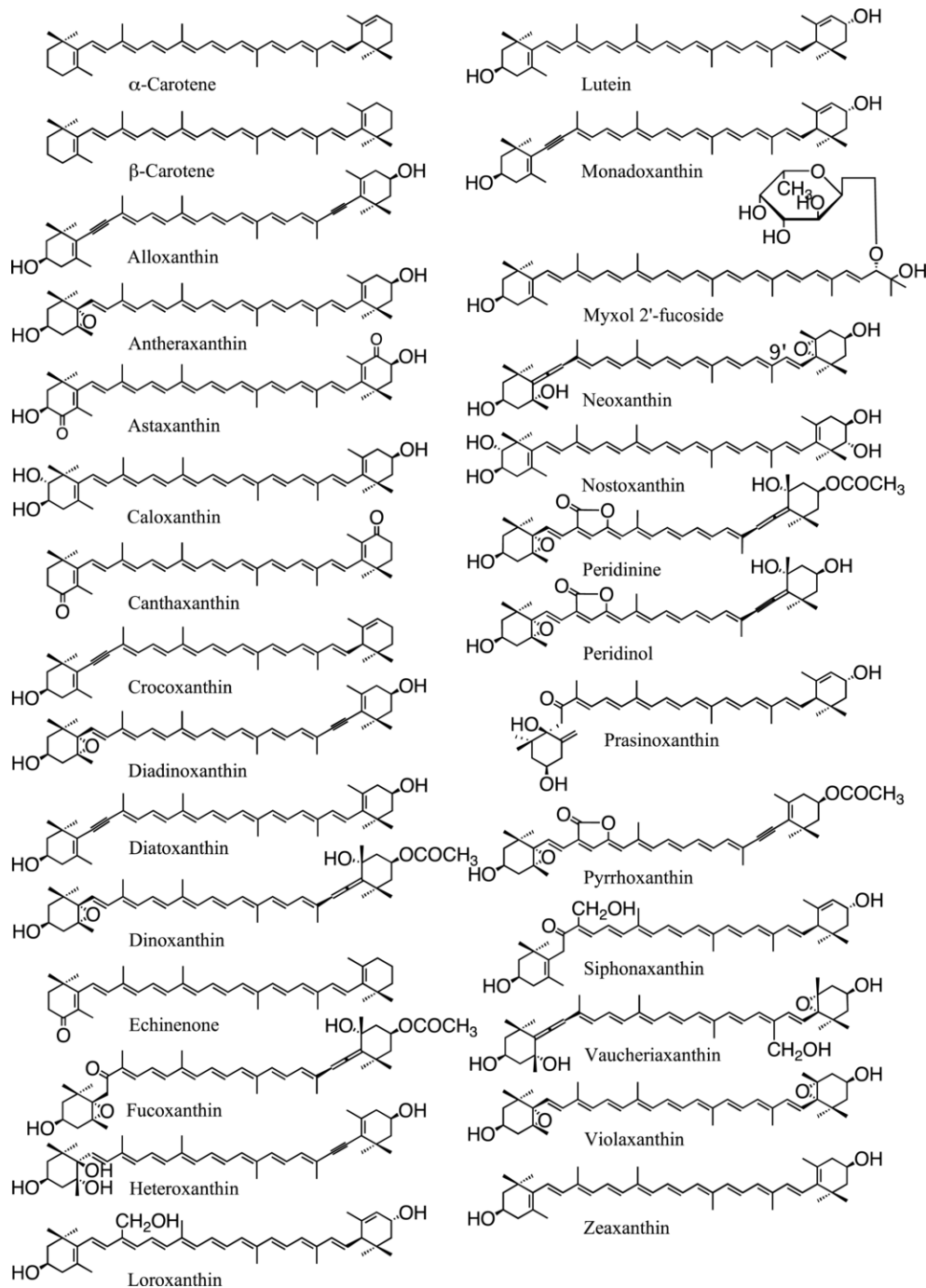
Slika 22. Hemijska struktura pigmenta hlorofila

(https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-Chlorophyll-a-and-b_fig3_269952977)

Karotenoidi pripadaju kategoriji terpenoidnih pigmenata (tetraterpeni) (Slika 23). Poznato je oko 600 različitih vrsta karotenoidnih pigmenata. Humani organizam ne može sintetisati karotenoide zbog čega je neophodan svakodnevni unos hranom. Karotenoidi koji se javljaju kod algi obuhvataju dve klase: **nepolarni karoteni** (β -karoten i likopen) i **polarni ksantofili** (lutein, astaksantin, zeaksantin, fukoksantin, violaksantin, neoksantin, dijatoksantin, diadinoksantin, sifonoksantin, kantaksantin, kaloksantin i dr.). Koriste se u biomedicinskoj, farmaceutskoj, prehrambenoj, kozmetičkoj industriji (antioksidativno svojstvo i kao prirodne boje), pružaju zaštitu tkivu od mogućeg oštećenja usled ROS-a i svetlosti, zatim sprečavaju lipidnu peroksidaciju na nivou ćelija, štiteći tkivo od oštećenja. Antioksidativna aktivnost se uglavnom zasniva na sposobnosti interakcije sa singletnim kiseonikom ($^1\text{O}_2$) i hvatanju superoksid radikalskog anjona (O_2^-) i hidroksil radikala ($\text{OH}\cdot$). Značajno je i to da srećavaju propagaciju lančanih reakcija slobodnih radikala, naročito onih koje su inicirane degradacijom polinenasićenih masnih kiselina na nivou membrana ćelija što može doprineti propadanju lipidnih membrana i narušavanju integriteta ćelija.

β -karoten je glavni izvor vitamina A u organizmu (**provitamin vit. A**: 1 molekul β -karotena u crevima se transformiše u 2 molekula vitamina A). Beta-karoten je bio prvi karotenoidni pigment poreklom iz algi koji je komercijalizovan.

Ovaj pigment stimuliše ćelijsku proliferaciju i unapređuje energetske metabolizam ćelija kože. Značajno doprinosi funkcionisanju imunog sistema, smanjuje rizik od pojave angine pektoris, sprečava smanjenje broja limfocita i trombocita usled jonizujućeg zračenja, koristi se u slučaju komplikovanih trudnoća, u cilju sprečavanja noćnog slepila, dijareje i groznice nakon porođaja.



Slika 23. Strukturne varijante karotenoidnih pigmenata algi

(https://www.researchgate.net/publication/51484357_Carotenoids_in_Algae_Distributions_Biosyntheses_and_Functions)

Prirodni β -karoten predstavlja mešavinu trans i cis isomera. Beta-karoten u voću i povrću sadrži oko 10% cis-izomera, dok beta-karoten izolovan iz algi sadrži oko 50% 9-cis izomera, što značajno doprinosi njegovoj boljoj antioksidativnoj aktivnosti. Istraživanja su pokazala da je prirodni derivat beta-karotena (poreklom iz vrste *Dunaliella bardawil*) četiri puta

efikasniji u deaktivaciji proizvoda oksidacije (konjugovani dieni) nego sintetički beta-karoten.

Beta karoten se smatra korisnim u sledećim slučajevima:

- u zaštiti kože od opekotina od sunca
- usporavanja progresije katarakte
- sprečavanja makularne degeneracije
- stimulacije imuniteta
- prevencije raka i bolesti srca
- astme
- depresije
- neplodnosti
- Parkinsonove i Alchajmerove bolesti (sprečava kognitivna oštećenja)
- psorijaze
- artritis
- visokog krvnog pritiska
- cervikalne displazije

U komercijalnoj proizvodnji se najčešće koristi biomasa zelenih algi i cijanobakterija. Zelena alga ***Dunaliella salina*** predstavlja izuzetan izvor beta-karotena (do 14% suve mase). Svetska proizvodnja u proseku iznosi 1,200 tona /godišnje (400 mg po m²). Pored date vrste koriste se i druge vrste poput ***Haematococcus pluvialis*, *Arthrospira (Spirulina) maxima*, *Arthrospira (Spirulina) platensis***. Među najznačajnijim svetskim proizvođačima ovog pigmenta su Australija, Izrael, SAD, Kina, Indija.

Likopen je jedan od najmoćnijih pigmenata sa aspekta eliminacije singletnog kiseonika (naročito onog koji nastaje usled izlaganja UV zracima) čime značajno usporava proces starenja kože. Takođe deluje i u sprečavanju makularne degeneracije, odnosno oksidacije na nivou ćelijskih membrana sočiva oka i pojave katarakte čime značajno doprinosi unapređju zdravlja oka. Značajan je i u prevenciji srčanih oboljenja, ateroskleroze, kancera debelog creva i dr. Najznačajniji predstavnici algi koji se koriste za proizvodnju ovog pigmenta su: *Dunaliella salina*, *Arthrospira (Spirulina)*, *Chlorella*, *Caulerpa taxifolia*.

Karotenodni pigment **astaksantin** se smatra jednim od najvrednijih algalnih jedinjenja koji ima primenu u ishrani ljudi i životinja, kozmetici, medicini i farmaciji. Astaksantin pripada ksantofilima (odlikuje ga veliki broj konjugovanih dvostrukih veza) i široko je rasprostranjen i zastupljen kod svih grupa algi. Sa aspekta ishrane, astaksantin se smatra najmoćnijim antioksidansom u prirodi koji igra ulogu visoko efikasnog hvatača slobodnih kiseoničnih radikala koji nastaju u ljudskom organizmu. Astaksantin stabilizuje slobodne radikale na taj način što ih dodaje na svoj polienski lanac - primarni način ispoljavanja antioksidativne aktivnosti. Takođe mogu delovati i kao donori vodonika ili elektrona

radikalima čineći ih stabilnim produktima i prekidajući lančanu reakciju u kojima oni učestvuju.

Astaksantin je supstanca koja štiti kožu od foto-oksidacije nastale usled izlaganja UV zracima, zbog čega se koristi u anti-tumor terapijama, kao i u tretmanu neuralnih oštećenja koja su povezane sa promenama vida tokom procesa starenja (makularna degeneracija), zatim kod Alzheimer i Parkinsonove bolesti. Astaksantin igra značajnu ulogu u prevenciji nekoliko patoloških procesa kod ljudi: UV fotooksidacija, inflamacija, kardiovaskularne bolesti, metabolički sindromi, kancerogeneza, čir na želudcu, bolesti vezane za starenje i dr. Osim toga smatra se da je to prirodna superhrana, jer doprinosi atletskim karakteristikama organizma (povećava snagu i smanjuje vreme oporavljanja mišića).

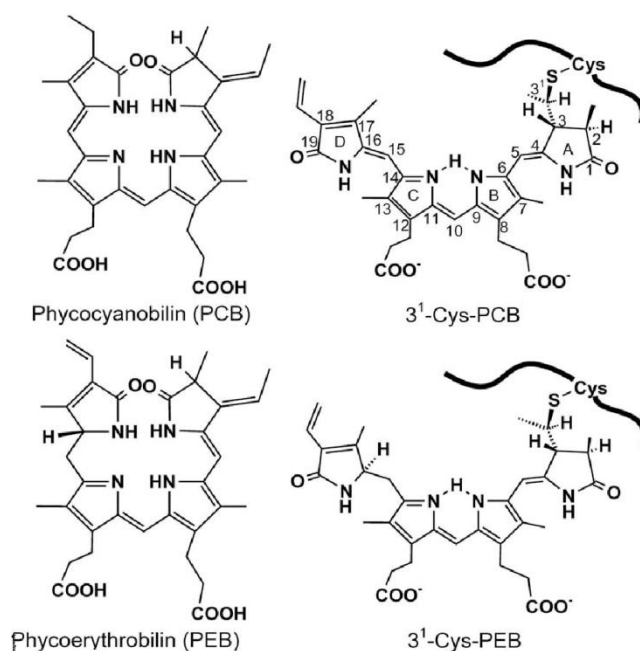
Marinske mikroalge u poređenju sa drugim izvorima astaksantina predstavljaju jedan od najpotentnijih, međutim, za komercijalnu proizvodnju se najčešće koristi zelena alga *Haematococcus pluvialis*.

Lutein je pigment koji podleže brzom oksidaciji od strane različitih oksidanasa čime sprečava da ROS reaguju sa drugim komponentama ćelije. Konjugovane duple veze u molekulu su značajne za antioksidativnu aktivnost (određuju fotohemijiska svojstva, hemijsku reaktivnost, omogućavaju neutralizaciju singletnog kiseonika i hvatanje drugih slobodnih radikala). Terapeutski značaj likopena se ogleda kroz sposobnost da inhibira oksidaciju lipoproteina LDL, smanjuje rizik od oksidativnog oštećenja u ćelijskim membranama očnog sočiva, supresuje razvoj kardiovaskularnih bolesti i pojavu ateroskleroze, pozitivno utiče na kongitivne procese mozga, ima **antigliksoaktivni efekat** (gliksoidacija tj. Millerova reakcija je proces u kojem šećeri spontano reaguju sa AK i amino grupom proteina što je osnovni faktor razvoja dijabetesa), inhibira pojavu dijabetske retinopatije, značaj i u slučaju kancera. Epidemiološka istraživanja su potvrdila da se za 19% smanjuje rizik od pojave katarakte kod ljudi koji ishranom uzimaju veće količine ksantofila. Niski nivoi luteina u plazmi su takođe povezani sa povećanom tendencijom infarkta miokarda, dok visok unos luteina uzrokuje smanjen rizik od srčanog udara. Pored toga, visoki nivoi karotenoida sa aktivnošću provitamina A, uključujući α -karoten, β -karoten i β -kriptoksantin, povezani su sa smanjenjem rizik od angine pektoris. Najznačajniji predstavnici algi koji se koriste za proizvodnju ovog pigmenta su: *Chlorella* (*Chlorella ellipsoidea*, *Ch. vulgaris*) koja je bogat izvor luteina (2–4 mg/g suve mase), *Muriellopsis sp.* (količina luteina 35 mg L⁻¹), zatim *Dunaliella salina*, *Scenedesmus ameriensi* i dr.

Fikobiliproteini

Fikobiliproteini su zastupljeni u pigmentnom sastavu samo kod tri grupe algi: Cyanobacteria, Rhodophyta i Cryptophyta. Predstavljaju pigmente rastvorljive u vodi koji sadrže tetrapirolov prsten kovalentno vezan za proteine (Slika 24). Sadržaj ove grupe pigmenta može da varira u zavisnosti od vrste i kreće se u opsegu 1-10% suve mase ćelija. Ovi pigmenti se koriste u prehrambenoj industriji kao prirodne, netoksične, nekancerogene i neteratogene boje, zatim u biomedicinskim istraživanjima kao fluorescentni markeri, posebno u imunobiologiji gde se koriste za obeležavanje antitela, receptora i drugih molekula. Linearne tetrapirolove prostetične grupe (bilini) odgovorne su za hvatanje reaktivnih kiseoničnih vrsta. Tokom digestije algi ove bilinske komponente se oslobađaju u intestinalnom traktu.

Hvatanje formiranih slobodnih radikala putem redoks reakcije („scavenger“ aktivnost) je osnovni način ispoljavanja antioksidativne aktivnosti crvenog pigmenta fikoeritrina (primarni put).



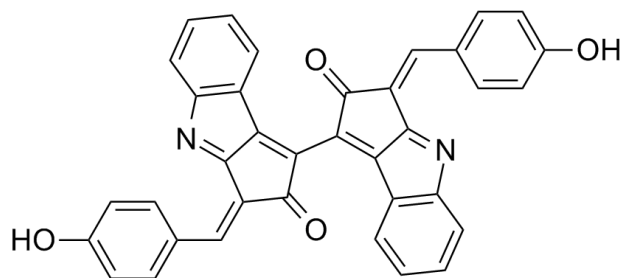
Slika 24. Hemijska struktura fikobiliproteinskih pigmenta, fikocijanina i fikoeritrina ([https://www.semanticscholar.org/paper/Review-article-STRUCTURAL-ORGANIZATION-AND-OF-IN Reddy/be149e81ed1680b14e2f996197af1a9a3571f11c/figure/0](https://www.semanticscholar.org/paper/Review-article-STRUCTURAL-ORGANIZATION-AND-OF-IN-Reddy/be149e81ed1680b14e2f996197af1a9a3571f11c/figure/0))

Fikocijanin i alofikocijanin ispoljavaju kombinovani mehanizam aktivnosti i preko primarnog i preko sekundarnog puta (helatori metalnih jona koje proizvode ROS). Istraživanja su pokazala da je fikocijanin 16 puta efikasniji antioksidans u odnosu na troleks (analog vitamina E) i 20 puta efikasniji u odnosu na vitamin C u zaštiti eritrocita od lize izazvane peroksil-radikalima. Takođe je utvrđeno da inhibira mikrozomalnu lipidnu

peroksidaciju i da ima zaštitna svojstva na nivou ćelija pankreasa i bubrega kod ljudi. Osim toga pokazano je da ima neuroprotektivno delovanja jer inhibira lipidnu peroksidaciju na nivou membrana neurona i inhibira akutnu aktivaciju mikroglia. Deluje u pravcu zaštite od razvoja bolesti kao što su artritis i ateroskleroza inhibicijom pro-oksidantnih faktora. Glavni izvori ovih pigmenata su vrste cijanobakterijskih rodova *Spirulina*, *Synechocystis*, *Anabaena*, *Nostoc*, kao i vrste crvenih algi poput *Galdieria sulphuraria*, *Porphyridium cruentum*, *Porphyra yezoensis*.

Što se tiče **fikoeritrina**, kao antioksidans ima višestruk terapetski efekat: štiti od toksikacije jetre, bubrega, od oštećenja na nivou DNK, štiti od oksidativnog stresa izazvanog ksenobioticima kao što je HgCl₂, sprečava pojavu neurotoksičnih plaka u moždanom tkivu u slučaju neurodegenerativnih promena (Alchajmerova bolest) inhibicijom enzima BACE1. Koristi se kao reagens u biomedicini, molekularnoj biologiji (proteomici i genomics kao visoko osetljivi fluorescentni marker), fluorescentna proba u protočnoj citometriji, u imunološkim testovima za obeležavanje antitela, imunofenotipizaciji, kao biosenzor u HIV monitoringu i u dijagnostici kancera, u fluorescentnoj mikroskopiji (FITC), kao boja u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji.

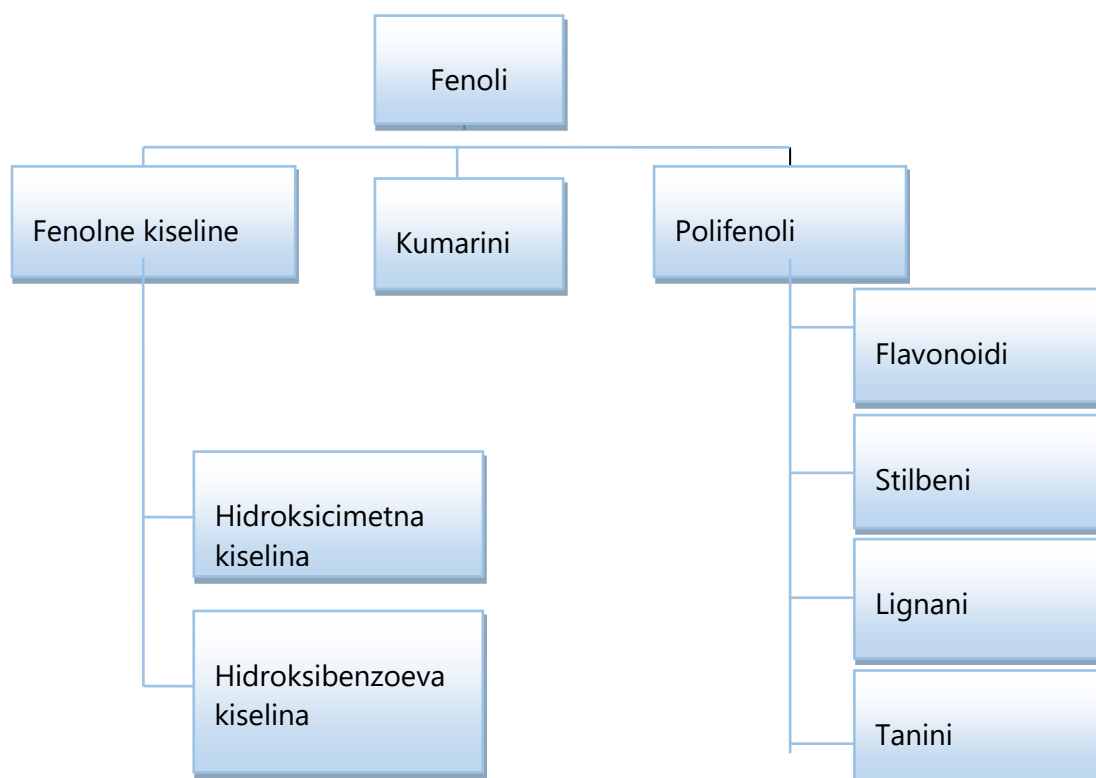
Scitonemin i **nostodion** su fotoprotektivni pigmenti koji se javljaju kod cijanobakterija. Preko 30 različitih rodova cijanobakterija produkuju scitonemin koji je sastavni deo ekstracelularnog matriksa. Po hemijskoj strukturi to je mali dimerni hidrofobni alkaloidni pigment koji u strukturi ima indolnu i fenolnu podjedinicu povezane C atomom (Slika 25). Apsorbuje UV A (315-400 nm) i UV C (100-280nm), a slabije UV B (280-315nm) predstavljajući filter za 90% sunčevog UV zračenja koje dospeva do ćelije. Ispoljava visoku efikasnost u smanjivanju produkcije ROS-a i formiranja DNK lezija na nivou ćelija, funkcionišući kao potentni UV filter i antioksidativni molekul (skevendžer ROS-a). Ovaj pigment se odlikuje i antiinflamatornim (redukuje inflamaciju kože usled UV zračenja) i antiproliferativnim delovanjem (inhibira aktivnost enzima kinaza). Zbog takvog svojstva scitonemin je našao primenu u kozmetičkoj industriji u proizvodnji preparata za zaštitu od sunčevog zračenja. Najznačajniji producenti ovog pigmenta su rodovi *Scytonema*, *Lyngbya*, *Nostoc*, *Stygonema*, *Tolypothrix*, *Calothrix* i dr.



Slika 25. Hemijska struktura scitonemina (<https://en.wikipedia.org/wiki/Scytonemin>)

Fenoli

Fenoli su značajna klasa prirodnih antioksidativnih jedinjenja koji u strukturnom pogledu predstavljaju jedinjenja koja sadrže benzoev prsten sa vezanom hidroksilnom grupom. Dele se u nekoliko klasa: fenolne kiseline, kumarini i polifenoli (flavonoidi, stilbeni, lignani, tanini) (Slika 26). Biološka aktivnost fenolnih jedinjenja je veoma raznovrsna: antioksidativna aktivnost, antiinflamatorna, antimikrobna, kardioprotektivna, antikancerogena, antialergijska, antihipertenzivna, imunomodulatorna i dr. Njihova antioksidativna aktivnost se može ispoljiti direktno, hvatanjem ROS-a, kao i stvaranjem helatnih jedinjenja sa metalnim jonima i indirektno indukcijom endogenih zaštitnih enzima, regulatornih faktora i signalnih puteva, uz istovremenu inhibiciju oksidativnih enzima. Među cijanobakterijama, značajan izvor fenolnih jedinjenja su vrste rodova *Arthrospira*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Synechocystis*. Mrke alge su bogate florotaninima (oligomeri floroglucinola), bromofenolima, flavonoidima, fenolnim terpenoidima, fenolnim kiselinama, i u tom pogledu se naročito ističu *Eisenia bicyclis*, *Fucus*, *Cystophora* i *Ecklonia*. Zelene alge poput grupe *Dasycladales*, zatim rodova *Ulva* i *Acetabularia* se odlikuju značajnim sadržajem flavonoida (rutin, kvercetin i dr.), dok se crvene alge posebno karakterišu prisustvom bromofenola, flavonoida i izoflavana (*Laurencia*, *Chondrus*, *Porphyra*).



Slika 26. Klasifikaciona šema fenolnih jedinjenja algi

Vitamini

Alge predstavljaju bogat izvor vitamina, naročito vitamina A, vitamina B-kompleksa, C i E. Njihov sadržaj značajno varira u zavisnosti od vrste, uslova kultivacije, metode sakupljanja i sušenja biomase. S obzirom da ljudi i životinje ne mogu da sintetišu vitamine, potrebno je da ih svakodnevno unose iz eksternih izvora.

Vitamin C (askorbinska kiselina) deluje kao snažan antioksidans, jer direktno reaguje sa oksidansima kao što je hidrosil radikal. Među algama, visok sadržaj vitamina C odlikuje marinske crvene alge kao što su *Porphyra umbilicalis*, *Himanthalia elongata* (morske špagete) i *Gracilaria changii*, koje sadrže vitamina C u količini koja je svojstvena povrću kao što su paradajz i salata. Takođe visok sadržaj vitamina C karakterističan je i za mrku algu *Eisenia arborea* (34.4 mg (100 g)⁻¹ suve mase) sličan sadržaj u mandarinama). Osim mrkih i zelene alge poput roda *Chlorella*, kao i cijanobakterije (*Nostoc*, *Anabaena*, *Arthrospira*) sadrže vitamin C u značajnim količinama.

Marinske alge su posebno bogat izvor vitamina B grupe, naročito vitamina B1 i B12, kao i vitamina A i E (tokoferol). Mrka alga *Macrocystis pyrifera* može da sadrži α -tokoferola (biološki aktivni oblik vitamina E) u količini sličnoj onoj u biljnim uljima poput ulja palme, suncokreta i sojinog ulja. Vitamin E ima veliki značaj u prevenciji ateroskleroze, multiple skleroze, srčanih i neurodegenerativnih bolesti. Zelene alge *Ulva sp.*, *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella tertiolecta* i *Chlorella stigmatophora*, bogate su vitaminima A i E i B-grupom vitamina [B₁, B₂ (riboflavin), B₆ (piridoksal), i B₁₂]. Cijanobakterije kao što su *Arthrospira (Spirulina)* i *Nostoc* su takođe bogate su vitaminima B grupe (B1, B2, B12) i vitaminom E.

4.2.2. Antimikrobna jedinjenja poreklom iz algi

Prvi baktericidni / bakteristatski metabolit izolovan iz biomase alge bio je **hlorelin** (mešavina masnih kiselina), a izolovali su ga Prat i saradnici 1944. godine (rezultati istraživanja objavljeni su u naučnom časopisu *Science*). Ovaj antibiotik je izolovan iz ekstrakta zelene alge *Chlorella vulgaris* i ispoljio je snažan antibakterijski efekat na bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*. Međutim, iako je predstavljao važno otkriće, nije bio podesan za značajniju komercijalnu upotrebu, ali je uslovio dalja istraživanja algi kao producenata antimikrobnih jedinjenja. Dosadašnja ispitivanja pokazuju da produkti algi imaju značajan potencijal u smislu antimikrobnog delovanja, naročito antibakterijskog i antivirusnog. Deluju na viruse poput herpes virusa, virusa gripa, inhibiraju određene faze HIV-a, deluju na Gr+ i na Gr-

bakterije koje su patogene ili oportunistički patogeni. Neke od BAM mogu delovati i na brži proces oporavka tkiva nakon infekcije, pospešuju zaceljenje rana i utiču na rastvaranje krvnih ugrušaka čak dva puta efikasnije od heparina, koji se u tu svrhu koristi u medicini. Po hemijskoj prirodi antimikrobna jedinjenja poreklom iz algi su veoma raznovrsna i to mogu biti masti i masne kiseline, peptidi, polisaharidi, fenoli (florotanini), alkaloidi, steroli, alkoholi, furanoni, terpeni i dr.

Masti i masne kiseline

Sadržaj lipida na nivou ćelija algi varira od 0,1-7% suve mase i uglavnom podrazumeva fosfolipide (10-20% lipida ćelije algi), glikolipide (više od 50% lipida ćelije) i nepolarne glicerolipide (neutralni lipidi). Od fosfolipida kod zelenih algi je dominantan fosfatidilglicerol, kod crvenih fosfatidilholin, dok se kod mrkih najčešće javljaju fosfatidilholin i fosfatidiletanolamin. Triacilglicerol koji se u ćeliji algi javlja kao rezervna materija može da čini 1-97% ukupnog lipidnog sadržaja. Poseban terapijski značaj imaju masne kiseline, mononezasićene (MUFA) i polinezasićene (PUFA) masne kiseline. Alge se posebno odlikuju bogatim sadržajem različitih polinezasićenih masnih kiselina. Familija polinezasićenih masnih kiselina podrazumeva linoleinske kiseline (n-6 ili 6-omega masne kiseline) i α -linolenske kiseline (n-3 ili omega-3 masne kiseline). Dugolančane PUFA čine značajan udeo lipida marinskih algi, dok su planktonske alge bogat izvor omega masnih kiselina. Najznačajnije PUFA su esencijalne masne kiseline: eikozapentaenska kiselina (EPA; 20:5 n-3) i dekozaheksaenska kiselina (DHA; 22:6 n-3) zajedno sa njihovim prekursorima α -linolenske kiseline (ALA; 18:3 n-3) i dekozapentaenoinska kiselina (22:5 n-3). EPA je zajedno sa arahidonskom kiselinom dominantna komponenta marinskih algi naročito crvenih gde može dostići do 50% ukupnog masnokiselinskog sadržaja (npr. *Palmaria palmata*). S obzirom na dokazane kardioprotektivne efekte DHA, brojni nutritivni proizvodi (hrana za odojčad, mlečni, pekarski proizvodi, bezalkoholna pića i dr.) obogaćeni su sa DHA poreklom iz algi.

Cijanobakterije karakterišu bogatim sadržajem gama linoleinske i eikozapentaenske kiseline (EPA), zelene alge bogate su sa alfa-linolenskom i stearidonskom kiselinom, crvene arahidonskom i eikozapentaenskom kiselinom, dok se kod mrkih mogu javite sve navedene.

Istraživanja su pokazala da lipidne komponente mogu ispoljiti mikrobicidnu i mikrobistatsku aktivnost u zavisnosti od koncentracije, od karakteristika ciljnog mikroorganizma i faktora sredine. Mehanizam delovanja se uglavnom ogleda kroz iterferiranje sa ćelijskom membranom i procesima koji su ključni za funcionisanje i zaštitu ćelije. Antimikrobna aktivnost masnih kiselina ostvaruje se kroz nekoliko osnovnih mehanizama: a) deluju kao **inhibitori transporta elektrona** sprečavajući oksidativnu fosforilaciju u membrani bakterijske ćelije i time **interferiraju sa ATP energetskim transferom**; c) **povećavaju permeabilnost membrane** i d) **inhibiraju enzime** kao što su

bakterijska glukoziltransferaza i enoil-acil protein reduktaza koja je neophodna za sintezu masnih kiselina u ćeliji bakterija što sve dovodi do narušavanja integriteta membrane, lize ćelije, peroksidacije i aktivacije auto-oksidativnih produkata degradacije.

Istraživanja su pokazala da ciklopentaenska kiselina i 10,13-oktadedienska kiselina porekom iz mrkih algi *Sargassum vulgare*, *S. fusiforme* deluju baktericidno na *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* izazivajući rupturu u ćelijskom zidu bakterija, izlazak citoplazme i smrt ćelije. Takođe je pokazano da dugolančane masne kiseline zelene alge *Planktochlorella nurekis* inhibiraju rast bakterija *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Salmonella enterica* var. *enteritidis*, *Arcobacter butzleri*, ispoljavajući tako bakteriostatsku aktivnost. Osim toga brojna istraživanja ukazuju na značajan antimikrobni potencijal i drugih vrsta algi. Tako vrsta *Chlorella vulgaris* (producent hlorelina koji je mešavina masnih kiselina) ispoljava antibakterijsko delovanje na Gr+ i Gr- bakterije, vrsta *Hematococcus pluvialis* (producent butanoinske i metilmlečne kiseline) inhibitorno deluje na *E. coli* i *Staph. aureus*, vrsta *Scenedesmus acutus* (sadrži kratkolančane masne kiseline) uzrokuju lizu bakterijskog protoplasta, dok dijatomejska vrsta *Phaeodactylum tricornutum* producent eikozapentaenske i palmitoleinske kiseline, inhibira rast Gr+ i Gr- bakterija. Za brojne cijanobakterijske vrste rodova *Arthrospira* (*Spirulina*), *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Tolypothrix* i dr. je takođe dokazano da ekstrakti masnih kiselina ispoljavaju antibakterijsko delovanje prvenstveno prema Gr+ bakterijama.

Polisaharidi

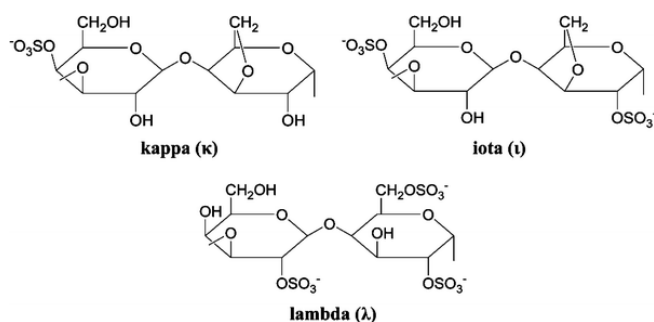
Polisaharidi predstavljaju ugljenohidratne polimere koji se sastoje od različitih monosaharidnih jedinica povezanih različitim glikozidnim vezama. Na nivou ćelija algi se sintetišu u različitom obliku i količini, a glavna uloga im je strukturna i uloga rezervne materije. Ćelijski zid algi sadrži, za razliku od biljne ćelije, poliuronide i polisaharide koji mogu da podležu metilaciji, acetilaciji, piruvatizaciji i sulfataciji. Najveći značaj sa aspekta antimikrobnog delovanja imaju upravo sulfovani polisaharidi. Najznačajnije vrste sulfovanih polisaharida koji se javljaju kod različitih grupa algi su egzopolisaharidi (EPS) (cijanobakterije), β -glukani (cijanobakterije), karagenani, agar, galaktani (crvene alge), laminarini, fukoidani, alginati, alginska kiselina (mrke alge) i ulvani (zelene alge). Antimikrobna aktivnost polisaharida algi zavisi od njihove zastupljenosti i distribucije, strukturnih i konformacijskih svojstava, molekularne mase, naelektrisanja i prisustva sulfata (kod sulfovanih). Osnovni mehanizam antibakterijskog delovanja ispoljava se preko glikoprotein-receptora polisaharida koji se vezuju za komponente u bakterijskom ćelijskom zidu i citoplazmatskoj membrani, a rezultat je povećanje propustljivosti ćelije, dezintegracija proteina i drugih makromolekula bakterija. Algalni polisaharidi, a posebno sulfovani polisaharidi, značajni su i kao farmaceutici i kao nutraceutici.

Najznačajniji cijanobakterijski polisaharidi koji ispoljavaju antimikrobni efekat su **spirulan** i **Ca-spirulan** ekstrahovani iz roda *Spirulina* i **nostoflan** izolovan iz vrste roda *Nostoc*. Spirulani pokazuju značajnu aktivnost protiv virusa HIV-1, HIV-2, influenza A, Coxacki virusa, virusa boginja, Polio virusa i dr. Osnovni mehanizam delovanja podrazumeva inhibiciju ulaska virusa u ćeliju domaćina i/ili inhibiciju aktivnosti enzima reverzne transkriptaze (kod npr. HIV-1). Osim toga, za spirulan je dokazan i antitrombinski efekat. Nostoflan ima širok spektar antivirusne aktivnosti i deluje protiv virusa čiji su receptori ugljenihidрати. Ispoljava inhibitorno delovanje u slučaju herpes simplex virus tipa 1 i 2 (HSV-1, HSV-2). Pored ove poseduje i antiviralnu aktivnost prema humanom citomegalovirusu (HCMV) i virus gripa tipa A, ali ne i aktivnost protiv adenovirusa i koksaki virusa. Sulfatni polisaharidi sprečavaju vezivanje virusnih partikula i njihovu fuziju za ćeliju domaćina i time blokiraju I fazu replikacije virusa.

Karagenani - linearni polisaharidni lanci (D-galaktoza i D-anhidrogalaktoza) sa sulfatnim estrima zakačenim na jedinicu šećera značajne su komponente ćelijskog zida crvenih algi (Slika 27). Postoje 3 forme u zavisnosti od stepena sulfatacije: **kappa** (1 sulfa grupa), **jota** (2 sulfa grupe po dishaidnoj jedinici) i **lamda** (3 sulfa grupe).

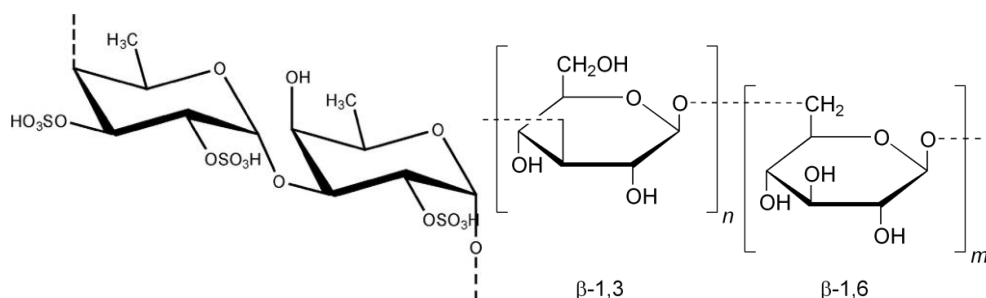
Familije Gigartinaceae i Solieriaceae, a naročito vrste *Chondrus crispus*, *Gigartina stellata* predstavljaju bogat izvor kappa karagenana koji ispoljavaju antibakterijsku i antifungalnu aktivnost (antimikrobni efekat prema vrstama *E.coli*, *Staph. aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium citrinum*, *Mucor sp.*). Polisaharidi crvene alge, *Pterocladia capillacea*, inhibiraju rast Gr+ bakterija *Bacillus cereus* i *Staph. aureus* i Gr- bakterija *Pseudomonas fluorescens* i *E. coli*. Karagenani se karakterišu i antiviralnim potencijalom, jer inhibiraju replikaciju određenih virusa. Prvi mehanizam podrazumeva sprečavanje interakcije virusnih proteina za receptore targetne humane ćelije. Ispoljavaju direktan virucidni efekat delujući na površinu virusa svojim naelektrisanjem tako da virus gubi sposobnost inficiranja ćelije domaćina (npr. *Herpes simplex virus*) jer su mesta na omotaču virusa blokirana ovim sulfovanim polisaharidima – rezultat je formiranje stabilnog kompleksa virion - karagenan. Delovanje jota karagenana na humani rhinovirus, denga virus, HSV, influenza A i B viruse ostvaruje se upravo putem sprečavanja ulaska virusa u ćeliju domaćina i ekspresije viralnih proteina. Najnovija istraživanja su pokazala da lambda karagenan ispoljava antiviralnu aktivnost prema respiratornim virusima, poput influenza A i B i SARS-CoV2 virusa, sprečavajući adheziju i ulazak virusa u ćeliju domaćina. Sulfovani galaktani crvene alge *Gigartina skottsbergii* inhibiraju inicijalnu fazu replikacije tj. adheziju virusa Herpes simplex 1 i 2. Drugi mehanizam antiviralnog delovanja karagenana je inhibicija procesa dekapidacije virusa nakon ulaska u ćeliju domaćina (kod npr. HPV). Karagenani mogu antiviralni efekat ispoljiti i inhibicijom sinteze kasnih proteina u ćeliji domaćina (npr. HSV-1). Tako je pokazano da K-karagen inhibira virus influenza A H1N1 i sprečava njegovu replikaciju *in vivo* i *in vitro*.

4. PRODUKTI CIJANOBakterIJA I ALGI I NJIHOVA BIOTEHNOLOŠKA PRIMENA



Slika 27. Hemijska struktura različitih varijanti polisaharida karagenana
(<https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-016-0461-3>)

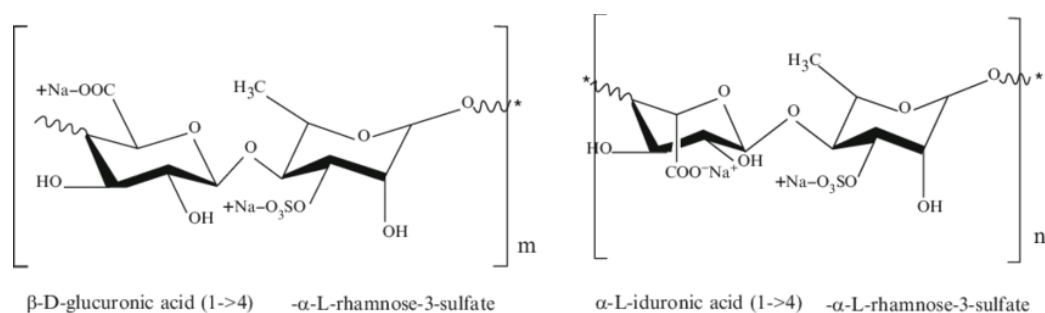
Laminarini i fukoidani predstavljaju grupu kompleksnih polisaharida rastvorljivih u vodi koji se primarno javljaju kod mrkih algi. Fukoidan čine L-fukoza i sulfatne estarske grupe uz prisustvo drugih molekula (Slika 28). Fukoidan i laminarin se koriste kao atibiotički agensi jer je pokazano da inhibiraju rast brojnih bakterijskih vrsta kao što su *Staph. aureus* i *E. coli*, sprečavaju vezivanje *Helicobacter pylori* i formiranje biofilma u mukozni želudca. Dokazan je antibakterijski efekat laminarina poreklom iz vrsta *Ascophyllum nodosum* i *Laminaria hyperborea* na bakterijske vrste *Staph. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* i *Salmonella typhimurium*. Sulfovani polisaharidi mrke alge *Sargassum swartzii* ispoljavaju inhibitorno dejstvo na veliki broj humanih patogenih Gr+ i Gr- bakterija. Pored antibakterijske aktivnosti, fukoidani mrkih algi ispoljavaju i antiviralni efekat. Dokazano je da izazivaju inhibiciju HIV, HSV, HCMV blokiranjem procesa vezivanja virusa za ćeliju domaćina (inhibicija I faze replikacije virusa). Fukani mrkih algi *Fucus vesiculosus*, *Dictyota mertensii*, *Lobophora variegata*, *Spatoglossum schroederi* deluju antiviralno tako što blokiraju aktivnosti enzima HIV reverzne transkriptaze (HIV-RT) *in vitro*. Laminarin poreklom iz vrste *Fucus vesiculosus* i *Saccharina longicuris* inhibira proliferaciju HIV virusa - sprečava adheziju virusa na T limfocite i inhibira enzim HIV-RT.



Slika 28. Hemijska struktura fukoidana
(<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/fucoidan>) i laminarina (<https://en.wikipedia.org/wiki/Laminarin>)

Ulvani predstavljaju vodorastvorljive sulfovanе polisaharide koji se javljaju kod nekih morskih zelenih algi (*Ulva* sp.) čineći u proseku 18-29% algalne biomase. Sastoje se od

glukoze, ramnoze, manoze, ksiloze, galaktoze, uronske kiseline i sulfatnih grupa povezanih α i β 1-4 vezama (Slika 29). Dokazana je antibakterijska i antifungalna aktivnost ulvana prema vrstama *Bacillus subtilis*, *Staph. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans*.

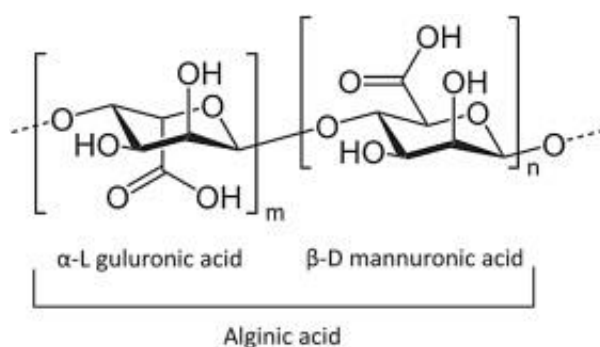


Slika 29. Osnovna hemijska struktura polisaharida ulvana

(https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-ulvan_fig6_294287292/download)

Algini/alginati

Alginske kiseline i njihove soli alginati (sa nekoliko katjona (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+}) karakteristične su za mrke alge i nalaze se kao sastavni deo njihovog ćelijskog zida i matriksa. Alginske kiseline su linearni kopolimeri β -D-manuronske (M) i α -l-guronske kiseline (G) povezane u pozicijama 1 \rightarrow 4 (Slika 30).



Slika 30. Hemijska struktura alginske kiseline

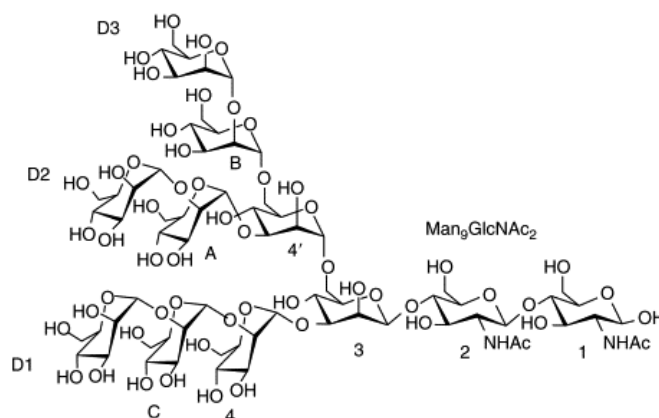
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444634535000021>)

Veliki medicinski značaj imaju alginati poreklom iz vrsta roda *Laminaria* (*L. hyperborea*, *L. digitata*, *L. japonica*) kao i vrste *Macrocystis pyrifera*. Postoji nekoliko patentiranih proizvoda na bazi alginata. Alginat polisaharid u kojem dominiraju heterogeni fragmenti je razvijen u novi anti-HIV lek (deluje u pravcu inhibicije vezivanja HIV-1 za T ćelije domaćina), dok je alginat polisaharid u kojem dominiraju homogeni fragmenti razvijen u kardiovaskularni lek. Algalni polisaharidi su najšire korišćena i konzumirana hrana algalnog porekla. Osim u medicinske svrhe koriste se i u prehrambenoj industriji za proizvodnju pića, mesnih i mlečnih proizvoda, poslastica i sl.

Lektini

Lektini predstavljaju prirodne bioaktivne peptide ili glikoproteine koji se reverzno vezuju za glikane u sastavu glikoproteina, glikolipida i polisaharida izazivajući proces aglutinacije. Algalni lektini se razlikuju u odnosu na biljne, jer su to monomerni proteini male molekulske mase, ne zahtevaju metalne jone za svoju biološku aktivnost i visoko su specifični. Lektini algi ispoljavaju antimikrobni efekat koji je uslovljen njihovom specifičnom strukturom. Amfipatična konformacija takvih peptida uslovljava vezivanje sa polarnim i nepolarnim strukturama na bakterijskoj citoplazmatskoj membrani čime interferiraju sa metaboličkim procesima, odnosno selektivno se vezuju za lipopolisaharide (beta glukane) i peptidoglikane na površini bakterijske ćelije delujući baktericidno.

Najznačajniji lektini izolovani iz cijanobakterija su manozu vezujući lektini **scitovirin** (sadrži 95 aminokiselina) poreklom iz vrsta *Scytonema varum* i **cijanovirin-N** koji sadrži 101 aminokiselinu (Slika 31) izolovan je iz vrste *Nostoc ellipsoporum*. Za oba ova lektina je utvrđena sposobnost inhibicije HIV virusa *in vitro* delovanjem na glikoproteinski omotač virusa i sprečavanjem I faze replikacije virusa (sprečavanje vezivanja virusa za proteinske receptore na T limfocitima).



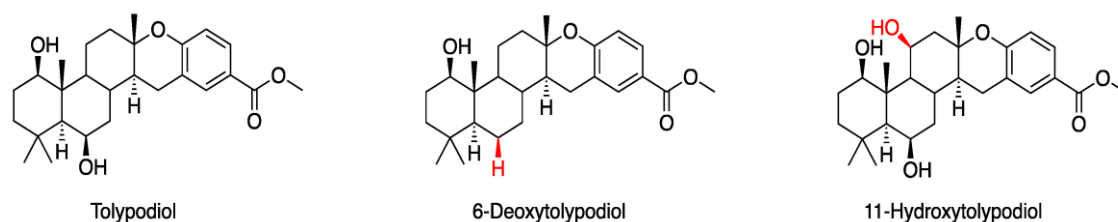
Slika 31. Hemijska struktura cijanovirina N

(<https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/cyanovirin-n>)

Pokazano je da lektini crvene alge *Solieria filiformis* deluju inhibitorno na Gr- bakterije (*P. aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus* vrste). Mehanizam antibakterijskog delovanja podrazumeva vezivanje lektina za manan (polimer manoze) koji je prisutan na površini ćelija Gr- bakterija.

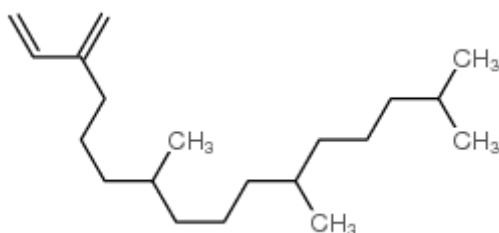
Terpeni i terpenoidi

Terpeni su jedinjenja koja se sastoje od ponovljenih izoprenskih jedinica često sa različitim supstituisanim grupama. Dele se u klase: hemiterpeni (C₅), monoterpeni (C₁₀), seskviterpeni (C₁₅), diterpeni (C₂₀), sesterterpeni (C₂₅), triterpeni (C₃₀) i politerpeni (>C₃₀). Terpenoidi su modifikovani derivati terpena koji sadrže kiseonik sa različitim funkcionalnim grupama (alkoholna, ketonska, aldehidna, estarska). Ispoljavaju širok spektar antimikrobne aktivnosti pri čemu većina ima sposobnost da inhibira dva za mikroorganizme ključna procesa, unos kiseonika i oksidativnu fosforilaciju. Antibakterijska aktivnost terpena ostvaruje se inhibicijom formiranja biofilma bakterija, vezivanjem i precipitiranjem proteina, interakcijom sa membranom i sintezom ATP-a, inhibiranjem nekih od mehanizama rezistencije bakterija. Prvi izolovan terpenoid iz cijanobakterija sa antibakterijskim delovanjem bio je **tolipodiol** (diterpenoid) (Slika 32). Antibakterijski diterpenoid nazvan **noskomin** izolovan iz vrste *Nostoc commune* ispoljava aktivnost protiv Gr⁺ bakterije *Staph. aureus* izazivajući inhibiciju sinteze proteina. Iz iste vrste su izolovani i **komnostini A-E** sa antibakterijskim delovanjem. Antibakterijski i antifungalni efekat utvrđen je i za **scitoskalarol** poreklom iz *Scytonema sp.*



Slika 32. Hemijska struktura tolipodiola (Xiaohe Jin et al., 2021)

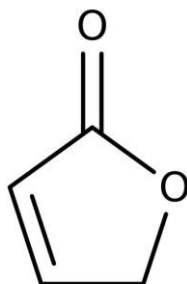
Antiviralna aktivnost dokazana je i za diterpen **neofitadijen** (Slika 33) poreklom iz mrkih algi, kao za seskviterpene **kartilagineol**, **obtuzol** i **elatol**. Diterpenoidi zelenih sifonalnih algi **halimedatrial** i **halimedalakton** koji su izolovani iz vrsta roda *Halimeda* ispoljavaju antibakterijsku aktivnost, dok triterpen **kapisteron** ima antifungalno delovanje. Takođe diiterpen-benzoati poput **bromofikolida** izolovani iz crvenih algi ispoljavaju antibakterijski efekat. Crvena alga *Callophycus serratus* je producent **bromofikolida A** koji inhibira rast rezistentnih bakterijskih sojeva *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecium*. Crvena alga *Sphaerococcus coronopifolius* produkuje **daktilomelan** koji inhibira rast vrsta *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Staph. aureus* i *Candida albicans* i **bromosferon** koji inhibitorno deluje na *Staph. aureus*.



Slika 33. Hemijska struktura neofitadijena (https://www.chemsrc.com/en/cas/504-96-1_467.html)

Laktoni

Laktoni su klasa cikličnih estara koji uključuju i algalne **furanone** (Slika 34). Ova grupa jedinjenja, koja se prvenstveno javlja kod crvenih algi, ispoljava antibakterijsko delovanje preko vrlo specifičnog mehanizma. Furanoni deluju na bakterijske male signalne molekule, quorum sensing supstance (autoinducere), odnosno interferiraju sa interćelijskom komunikacijom nekih patogenih i oportunistički patogenih bakterija kao što su *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*. Posebno je važno njihovo delovanje u pravcu inhibicije stvaranja biofilma patogena, uzročnika određenih bolesti (npr. u slučajevima stvaranja mukoidnog filma na plućima obolelih od cistične fibroze). U tom smislu je naročito potentna vrsta *Delisea pulchra*, producent halogenizovanih furanona, koji deluju antibakterijski sprečavajući formiranje biofilma vrste *P. aeruginosa*.



Slika 34. Hemijska struktura furanona

4.2.3. Antikancerogena (citotoksična) jedinjenja poreklom iz algi

Istraživanja antikancerogenog potencijala algi obuhvataju ispitivanje agenasa koji smanjuju frekvencu ili brzinu stvaranja tumora nezavisno od mehanizma dejstva - *antikancerogeni* agensi, kao i ispitivanje *antineoplastičnih* agenasa kojima se tretiraju već stvoreni tumori. Mehanizmi citotoksičnosti bioaktivnih agenasa poreklom iz cijanobakterija i algi se ispoljavaju na različitim nivoima ćelija kancera i proliferirajućih ćelija:

- inhibicija enzima tumorskih ćelija
- interakcija sa DNK molekulima
- interakcija sa mikrotubulima
- uticaj na ROS aktivnost
- uticaj na onkogene transdukcione signalne puteve

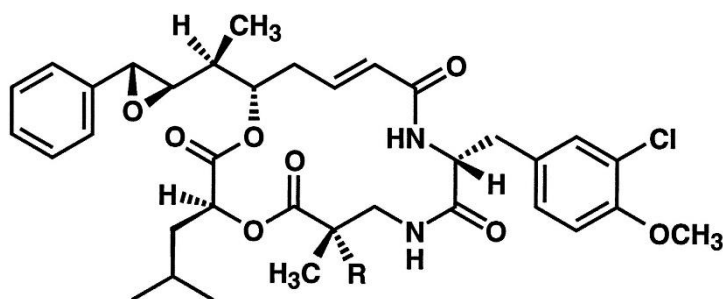
Od ukupnog broja ispitanih mikroalgi, više od jedne četvrtine (uglavnom cijanobakterija i marinskih algi) imaju sposobnost produkcije određenih antikancerogenih jedinjenja.

Sa druge strane noviji trendovi u istraživanju lekova potenciraju i ističu marinske sredine kao najbogatije i najkompleksnije u pogledu biodiverziteta i koje imaju visok potencijal za otkrivanje novih farmaceutika sa antitumorskim delovanjem. Specifični i jedinstveni hemijski, fizički i biološki uslovi u takvoj sredini pružaju mogućnost za produkciju originalnih i visoko potentnih bioaktivnih molekula. Zbog toga se smatra da su marinske alge jedne od najbogatijih resursa biološki specijalizovanih metabolita koji imaju različite simultane funkcije kako za same alge tako i za druge organizme.

Antikancerogena jedinjenja poreklom iz cijanobakterija i algi pripadaju različitim grupama kako u pogledu hemijske strukture tako i mehanizma delovanja.

Mnoga cijanobakterijska peptidna jedinjenja koji pripadaju oligopeptidnim familijama/klasama (mikropeptini, anabenopeptini, eruginozini, spumigini, ciklamidi, microginini, mikroviridini, toksini- mikrocistini, nodularini) ispoljavaju antikancerogenu aktivnost. Najvažniji među njima su inhibitori enzima proteaza, elastaza i fosfataza, kao i inhibitori mikrotubula na nivou ćelija kancera. Sa medicinskog aspekta, inhibitori enzima proteaza mogu da se koriste prilikom razvoja terapijskih antikancerogenih supstanci, s obzirom da maligne bolesti uključuju upravo pojačanu aktivnost enzima proteaza. Velika grupa cikličnih ili alifatičnih peptida poput kriptoficina, cijanopeptida, cijanopeptolina, mikropeptina, mikroginina poreklom iz planktonskih rodova *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nodularia*, *Aphanizomenon* ispoljavaju inhibicioni efekat na enzime proteaze. Prisustvo takvih komponenata je potvrđeno i kod terestričnih cijanobakterija rodova *Nostoc* i *Scytonema*. Tako su **cijanopeptolini** tipični inhibitori enzima serin-proteaze, **anabenopeptini** inhibitori egzopeptidaza (npr. karboksipeptidaza), dok su **hepatotoksini** (mikrocistini i nodularini) snažni inhibitori protein-fosfataza.

Kriptoficini su ciklični peptidi cijanobakterija (Slika 35) koji citotoksičnost ispoljavaju putem inhibicije sinteze mikrotubula izazivajući njihovu destabilizaciju na nivou ćelija kancera. Utvrđeno je da ispoljavaju snažnu citotoksičnu aktivnost u slučaju kancera debelog creva, jajnika, nasofaringsa i pluća.

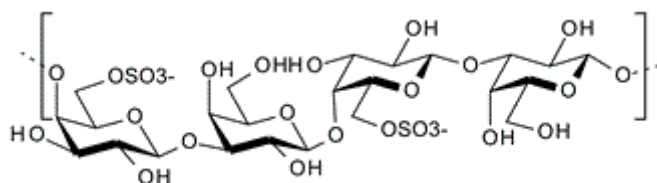


Slika 35. Hemijska struktura kriptoficina (<https://www.pnas.org/content/95/16/9313>)

Scitoficin i tolitoksin su strukturno bliski makrociklični laktoni ekstrahovani iz vrsta cijanobakterijskih rodova *Scytonema*, *Tolypothrix* i *Cilindrospermum*. Izazivaju različite citotoksične efekte kroz depolarizaciju ćelijskih mikrofilamenata na nivou ćelije kancera (imaju sposobnost inhibicije polimerizacije aktinskih mikrofilamenata unutar ćelije kancera). Dokazana je njihova antiproliferativna aktivnost u slučaju ćelija karcinoma nasofaringsa.

Ciklamidi predstavljaju klasu cikličnih heksapeptida koji sadrže tri prstena azola ili azolina. Ova jedinjenja su izolovana iz slatkovodnih i terestričnih cijanobakterija redova *Chroloccalles*, *Nostocales* i *Stigonematales* i iz određenih marinskih vrsta. Najznačajniji peptid iz ove grupe jedinjenja je **bistramid A** koji ispoljava antiproliferativni efekat. Smatra se da selektivno aktivira protein kinazu (PKC) δ , koja je osnovni medijator antiproliferativne aktivnosti. Takođe se vezuje za aktin i izaziva disrupcija aktinskog citoskeleta ćelije tumora inhibirajući proces polimerizacije aktina i ćelijsku proliferaciju. Druga grupa jedinjenja **kalotriksini (A i B)** poreklom iz soja *Calothrix sp.* (CAN 95/2), ispoljava inhibiciju enzima DNK topoizomeraze malignih ćelija i zaključavaju ćelijsku deobu u S ili G2 fazi, zaustavljajući tako proces proliferacije. Istraživanja su pokazala da imaju antiproliferativno dejstvo na ćelije cervikalnog karcinoma (HeLa ćelije).

Pojedini **polisaharidi** crvenih algi ispoljavaju snažnu antikancerogenu aktivnost. Vrste iz rodova *Gracilaria* i *Porphyra* su jedan od glavnih izvora takvih produkata. **Porfiran**, sulfovani galaktan (Slika 36), izolovan iz crvene alge *Porphyra haitanensis* ispoljava antikancerogenu aktivnost tako što smanjuju ćelijsku proliferaciju i indukuje apoptozu.



Slika 36. Hemijska struktura porfirana

([https://www.carbosynth.com/carbosynth/website.nsf/\(w-productdisplay\)/045A825B3551C67180258108003E8578](https://www.carbosynth.com/carbosynth/website.nsf/(w-productdisplay)/045A825B3551C67180258108003E8578))

Biološka aktivnost glavnih komponenata kosmopolitske vrste *Sphaerococcus coronopifolius*, bromovani ciklični diterpeni - **bromoditerpeni** ispoljavaju citotoksičnost ka humanim ćelijama kancera pluća i HepG2 ćelijama kancera jetre, tako što redukuju ili inhibiraju vijabilnost i proliferaciju ćelija.

Palmatična kiselina poreklom iz vrste *Amphiroa zonata* u *in vitro* ispitivanjima je pokazala selektivnu citotoksičnost prema ćelijama humane leukemije izazivajući apoptozu i inhibirajući aktivnost enzima DNK topoizomeraze tumorskih ćelija.

Aglutinin ESA je lektin bogat manozom ekstrahovan iz vrste *Eucheuma serra* za koji je utvrđeno da se vezuje za površinu ćelija kancera i na taj način indukuje njihovu apoptozu.

Zelena alga *Chlorella pyrenoidosa* je producent **polipeptida CPAP** (*C. pyrenoidosa antitumor polypeptide*) koji ispoljava inhibitorno dejstvo na ćelije humanog kancera jetre HepG2. Takođe, vrsta *Cymopolia barbata* produkuje jedinjenja **bromo-hidro-hinone** (PBQ) koja imaju citotoksični i hemopreventivni potencijal. Identifikovani su PBQ1 i PBQ2 za koje je utvrđeno da predstavljaju značajan potencijal u hemoterapiji i u lečenju kancera debelog creva.

Za pojedine pigmente algi je takođe pokazano da mogu ispoljiti antikancerogenu aktivnost. Karotenoid - **sifonaksantin**, pigment sifonalnih zelenih algi je potentni inhibitor ćelija kancera HL-60 Hodgkin sindroma. Tretman sa sifonaksantinom rezultira značajnu redukciju ćelijske vijabilnosti a sam mehanizam izazivanja apoptoze je hromatinska kondenzacija. Indukcija apoptoze podrazumeva redukovanu ekspresiju Bcl-2 (anti-apoptotični protein) i povećanu ekspresiju enzima kaspaze-3 (pro-apoptotični enzim). Takođe je i u slučaju pigmenta **fukoksantina** dokazan snažan efekat *in vivo* u pravcu indukcije ćelijske smrti kod ćelija humane leukemije, kancera debelog creva i kože. Smatra se da je osnova ovog delovanja povećanje ekspresije međućelijske komunikacije, uporedo sa povećanjem intracelularnog nivoa Ca^{2+} što doprinosi prekidanju ćelijskog ciklusa i izaziva apoptozu. Fukoksantin poreklom iz morske alge *Undaria pinnatifida* ispoljava snažno delovanje u pravcu redukcije vijabilnosti različitih ćelijskih linija kancera kolona *in vitro*. Tretman dovodi do DNA fragmentacije i redukcije nivoa anti-apoptotičnog proteina, Bcl-2. Istraživanja su pokazala da komponente ove mrke alge ispoljavaju antiproliferativnu aktivnost i u slučaju kancera prostate, dojke, pluća i jetre.

Značajnu aktivnost u pogledu inhibicije proliferacije ćelija kancera imaju i polisaharidi algi. Tako sulfovani **polisaharid EI-SP**, ekstrahovan iz vrste *Enteromorpha intestinalis*, ispoljava citotoksičnu aktivnost na ćelije humanog hepatoma HepG2. Utvrđeno je da tretman sa EI-SP dovodi do smanjenja ekspresije proteina Bcl-2, smanjenja membranskog potencijala kao i oslobađanja citohroma c u citosol HepG2 ćelija, što za posledicu ima apoptozu ćelija kancera.

Fukoidan poreklom iz vrste *Undaria pinnatifida* ispoljava antitumorsku aktivnost u slučaju ćelijskih linija PC-3 (kancer prostate), HeLa (kancer grlića materice), A549 i HepG2 (kancer jetre) ćelija. Fukoidan može imati veliki značaj u hemoterapiji s obzirom da ispoljava cito-protektivnu aktivnost (štiti dendrične ćelije imunog sistema). *In vitro* istraživanja pokazuju da fukoidan ekstrahovan iz vrsta *Sargassum sp.* i *F. vesiculosus* utiče na redukciju broja vijabilnih ćelija Lewis-ovog karcinoma pluća i melanoma (B16 ćelije). **Laminarin** izolovan iz vrste *Eisenia bicyclis* pokazuje inhibitorni efekat na humani melanom (SK-MEL-28) i kancer debelog creva (DLD-1). Takođe, **heterofukani** iz vrste *Sargassum filipendula* imaju

antiproliferalno dejstvo u slučaju ćelija kancera vrata, prostate i jetre, HeLa ćelija i HEPG2 ćelija.

Iz marinske mrke alge *Ecklonia cava* je ekstrahovan **diekol (florotanin)** za koji je utvrđeno da inhibira rast i proliferaciju ćelija kancera ovarijuma, indukujući njihovu programiranu smrt. Takođe se i dve vrste mrkih algi, *Dictyota cilliolata* i *Dictyota menstrualis* odlikuju produkcijom metabolita koji ispoljavaju značajan citotoksičan efekat prema kanceru cerviksa uterusa. Utvrđeno je da su metabolite ovih algi snažni inhibitori SiHa ćelija (karcinom cerviksa), da izazivaju morfološke i biohemijske promene kao što su smanjenje ćelijske vijabilnosti i kondenzacija hromatina. Ovakve promene indukuju zaključavanje ćelijskog ciklusa u S fazi izazivajući apoptozu, što se smatra osnovnim mehanizmom njihove antikancerogene aktivnosti.

4.2.4. Alge u kozmetici

Mnogi predstavnici algi produkuju metabolite koji se kao aktivni sastojci dodaju kozmetičkim proizvodima u cilju unapređenja zdravlja i zaštite kože i kose. Takvi metaboliti su zaslužni za procese podmlađivanja i hidratacije kože, koriste se kao zgušnjivači u šamponima i kremama (polisaharidi), kao stabilizatori ili konzervansi, kao jedinjenja koja deluju kao UV filtri prisutni u raznim preparatima za sunčanje, kao antioksidativni agensi i sl. Dobar primer su beta-karoteni i mikrosporinske aminokiseline izolovane iz zelenih algi, florotanini i fukoidani mrkih algi i fenolna jedinjenja crvenih algi koji se koriste u prevenciji pojave bora i za formulaciju krema sa zaštitnim faktorom. Osim toga, polifenolna jedinjenja mrkih algi deluju i u pravcu prevencije hiperpigmentacije kože, jer inhibiraju enzim tirozinazu koji učestvuje u stvaranju melanocita zbog čega su sastavni deo krema za sprečavanje pojave fleka na koži. Pored toga, neki sulfatni polisaharidi crvenih algi deluju na već nastale melanocite i time smanjuju hiperpigmentaciju.

Zahvaljujući antimikrobnim svojstvima koja ispoljavaju jedinjenja izolovana iz algi mogu služiti kao konzervansi u kozmetičkim proizvodima. Takođe, mogu se koristiti i kao mirisne komponente ili boje u nekim preparatima. Glavne mirisne komponente koje proizvode alge su terpenoidi, karotenoidi, masne kiseline i sumporna jedinjenja. Osim toga kozmetička industriju koristi i različite pigmente kao što su fikobilini i karotenoidi, kao prirodne, nekancerogene i netoksične boje u različitim kozmetičkim proizvodima (ruževi za usne, senke za oči i dr.). Cijanobakterije su glavni producenti fikobilina, dok se karotenoidi mogu dobiti i iz brojnih predstavnika drugih algalnih razdela. Glavni karotenoidi koji se koriste su β -karoten, astaksantin, lutein, likopen, kantaksantin i fukoksantin. Pored toga, agar i karagenani kao važni sastojci ćelijskih zidova crvenih algi, poznati su po svojoj sposobnosti zgušnjavanja, tako da služe kao vezivni agens u različitim kozmetičkim preparatima.

Antioksidativno delovanje nekog jedinjenja na kožu podrazumeva njenu zaštitu od slobodnih radikala. Ovi slobodni radikali dovode do pojačane lipidne peroksidacije čime se ubrzava proces starenja kože. Iz određenih mikroalgi kao što su *Ankistrodesmus spp.*, *Spirogyra spp.*, *Euglena spp.*, kao i nekih cijanobakterija, izolovana su fenolna jedinjenja (galna, siringinska, protokatehinska i hlorogena kiselina) i flavonoidi (katehin i epikatehin) koji kao donori atoma vodonika ili elektrona imaju sposobnost uklanjanja slobodnih radikala te se zbog toga mogu primeniti kao aktivni agensi "anti-aging" preparata.

Najznačajniju primenu u patentiranim komercijalno dostupnim kozmetičkim proizvodima imaju vrste rodova *Arthrospira* i *Chlorella*. Ekstrakti ovih algi se mogu naći kao komponente u proizvodima namenjenim za negu i zaštitu lica i kože (antirid kreme, proizvodi za regeneraciju i toniranje, maske za lice, kreme za sunčanje i sl.). Reprezentativni komercijalno dostupni proizvodi su 1) **Protulines** (Exsymol S.A.M. Monako) - ekstrakt vrsta roda *Arthrospira* bogat proteinima za reparaciju i ublažavanje prvih znakova starenja kože, za zatezanje kože i prevenciju pojava strija i 2) **Dermochlorella** (Codif, St. Malo, Francuska) – ekstrakt vrste *Chlorella vulgaris* za stimulaciju sinteze kolagena u koži, regeneraciju tkiva i redukciju bora. Takođe postoje i proizvodi na bazi drugih vrsta algi, kao što je **Pepha-Tight** (Pentapharm, Bezel, Švajcarska) koji sadrži ingredijente za zatezanje kože poreklom iz vrste *Nannochloropsis oculata* i **Pepha-Ctive** na bazi sastojaka vrste *Dunaliella salina* koji stimulišu proliferaciju i energetski metabolizam ćelija kože.

Pored opisanih svojstava koje alge ispoljavaju i primene u kozmetičkim preparatima za negu kože, one se mogu koristiti i u preparatima namenjenim za negu kose. Sedam-floroekol je jedinjenje izolovano iz mrkih algi koje stimuliše rast kose u dermalnim papilarnim ćelijama i spoljašnjim ćelijama omotača korena vlasi. Ulje različitih algi je bogato omega-3 masnim kiselinama zbog čega se može koristiti u tretiranju suve i beživotne kose jer sprečava njeno opadanje, pomaže kod seboreje i perutanja kože glave. Algalne masne kiseline poput dokosaheksaenoinske i eikozapentaenske kiseline se često koriste u uljima za kosu, serumima, gelovima i sprejevima obezbeđujući ishranu folikulima dlake i koži temena glave čineći kosu jačom i zdravijom.

S obzirom na sva svojstva koja cijanobakterije i alge poseduju i veoma raznovrstan biohemijski odnosno metabolički diverzitet, one se mogu smatrati vrlo značajnim prirodnim resursom nutritivnih, funkcionalnih sastojaka, bioaktivnih jedinjenja i terapijskih agenasa koji mogu biti primenjeni u prehrambenoj industriji, u prevenciji i lečenju određenih bolesti i kao aktivne komponente značajne za nove kozmetičke formulacije.

Cijanobakterije i alge su bogat izvor visoko vrednih jedinjenja poput proteina, pigmenata, vitamina, masnih kiselina, zbog čega se koriste u prehrambenoj industriji, biomedicini, farmaciji, kozmetičkoj industriji, poljoprivredi. Među cijanobakterijama najveći značaj i dugu tradiciju korišćenja za potrebe ishrane imaju predstavnici rodova *Nostoc* i *Spirulina*. Posebno se u tom pogledu ističe spirulina koja se još naziva i super-hrana (visok sadržaj proteina (55-60% suve mase), esencijalnih amino-kiselina, ugljenih hidrata (10-20% suve mase), masti (9-14% suve mase), od kojih su posebno značajne polinezasićene masne kiseline poput gama-linoleinske i eikozapentaenske kiseline). Crvene alge se takođe koriste u ishrani i najznačajniji rod je *Porphyra* bogat proteinima (25-50%), jodom, mineralima i dijetetskim vlaknima. Ima nizak sadržaj šećera (0,1%), a visok sadržaj vitamina, posebno vitamina A, kompleks vitamina B i vitamina C. Najznačajniji predstavnici mrkih algi koji se intenzivno koriste u ishrani su vrste rodova *Laminaria* (kombu) i *Undaria* (wakame). Vrste roda *Laminaria* sadrže oko 10% proteina, 2% masti, vitamine, minerale, naročito gvožđe i jod, zbog čega se smatraju nutritivno vrednom hranom. *Undaria* je izuzetna namirnica s obzirom da sadrži oko 16,3% proteina i sve esencijalne amino kiseline, β -karoten, jod, vitamine (B1, B2, B3, B6) i minerale (K, Na, Ca, Mg, P, Fe i dr.). Najznačajniji rodovi zelenih makroalgi koji se koriste u ishrani su *Ulva*, *Enteromorpha*, *Monostroma*, *Caulerpa*, dok se mikroalge poput rodova *Chlorella* i *Dunaliella* koriste za dobijanje suve biomase ili za izdvajanje bioaktivnih jedinjenja.

Biohemijska heterogenost algi se ogleda kroz produkciju strukturno veoma različitih primarnih i sekundarnih metabolita. Smatraju se izuzetno bogatim izvorom biološki aktivnih materija (BAM) koje kao terapijski agensi mogu imati značajnu primenu u farmaciji, medicini i kozmetici. Diverzitet takvih prirodnih produkata i u strukturnom i u funkcionalnom pogledu je ogroman (proteini/peptidi, polisaharidi, masne kiseline, alkaloidi, fenoli, terpeni, terpenoidi, laktoni i dr.). U funkcionalnom pogledu i aktivnosti koju ispoljavaju oni se svrstavaju u antioksidativna, antimikrobna, antitumorska (citotoksična), imunomodulatorna, neuroprotektivna, antiinflamatorna jedinjenja. Biološki aktivna jedinjenja se mogu proizvoditi tokom primarnog metabolizma, međutim češće se proizvode u stacionarnoj fazi rasta kulture tokom sekundarnog metabolizma (sekundarni metaboliti).

Antioksidativna jedinjenja algi obuhvataju enzimске i neenzimске antioksidanse. Enzimski podrazumevaju enzime superoksid dismutazu (SOD), katalazu, glutation reduktazu, glutation peroksidazu, dok su najznačajniji neenzimski antioksidansi pigmenti, peptidi, fenoli i vitamini.

Antimikrobna jedinjenja poreklom iz algi su biohemijski veoma raznovrsna i to mogu biti masti i masne kiseline (MUFA i PUFA), peptidi, polisaharidi (beta-glukani, karagenani, ulvani, laminarini, algini), fenoli (florotanini), alkaloidi, steroli, alkoholi, furanoni, terpeni i dr. Takva jedinjenja ispoljavaju specifične mehanizme aktivnosti. Citotoksičnost bioaktivnih agenasa poreklom iz cijanobakterija i algi se ispoljava na različitim nivoima ćelija kancera i proliferirajućih ćelija: inihibicija enzima tumorskih ćelija, interakcija sa DNK molekulima, interakcija sa mikrotubulima, uticaj na ROS aktivnost, uticaj na onkogene transdukcione signalne puteve. Više od jedne četvrtine (uglavnom cijanobakterija i marinskih algi) ispitanih algi imaju sposobnost produkcije određenih antikancerogenih jedinjenja (peptide, polisaharide, ciklamide, pigmente i dr.).

Mnogi predstavnici algi proizvode metabolite koji se dodaju kozmetičkim proizvodima u cilju unapređenja zdravlja i zaštite kože (podmlađivanja i hidratacije kože) i kose, koriste se kao zgušnjivači u šamponima i kremama (polisaharidi), kao stabilizatori ili konzervansi, kao jedinjenja koja deluju kao UV filtri u raznim preparatima za sunčanje (pigmenti), kao antioksidativni agensi i sl.

Literatura:

1. Abdul Rehman Phull & Song Ja Kim (2019): *Undaria pinnatifida* a Rich Marine Reservoir of Nutritional and Pharmacological Potential: Insights into Growth Signaling and Apoptosis Mechanisms in Cancer. In: Nutrition and cancer, ISSN 1532-7914 (Online), <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1490449>.
2. Alves A, Sousa R, Reis R. (2013). A practical perspective on ulvan extracted from green algae. *J Appl Psychol*, 25, 407–24.
3. Aris Hosikian, Su Lim, Ronald Halim, and Michael K. Danquah (2010): Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Chemical Engineering Vol 2010, Article ID 391632, 11 pages, doi:10.1155/2010/391632.
4. Babić O., Kovač D., Rašeta M., Šibul F., Svirčev Z., Simeunović J. (2016): Evaluation of antioxidant activity and phenolic profile of filamentous terrestrial cyanobacterial strains isolated from forest ecosystem. DOI: 10.1007/s10811-015-0773-4. *J Appl Phycol*, Volume 28, Issue 4, pp 2333–2342.
5. Bo Kyeong Yoon, Joshua A. Jackman, Elba R. Valle-González, Nam-Joon Cho (2018): Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1114; doi:10.3390/ijms19041114.
6. Couteau C, Coiffard L. 2020. Phycocosmetics and Other Marine Cosmetics, Specific Cosmetics Formulated Using Marine Resources. *Marine Drugs*. 18(6): 322.

7. Gantar M. and Svirčev Z. (2008): Microalgae and cyanobacteria: food for thought. *Journal of Phycology* 44, 260–268.
8. Gupta PL, Rajput M, Oza T, Trivedi U, Sanghvi G. 2019. Eminence of Microbial Products in Cosmetic Industry. *Natural Products and Bioprospecting*. 9(4): 267–78.
9. Jamkova K. and Valko M. (2014): Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70:102-110.
10. Joshi, Surabhi, Roshani Kumari, Vivek Upasani (2018): Applications of Algae in Cosmetics: An Overview." *International Journal of Innovative in Science, Engineering and Technolog*, 1269–78.
11. Kovač, D., Babić, O., Milovanović, I., Mišan, A., Simeunović, J. (2017): The production of biomass and phycobiliprotein pigments in filamentous cyanobacteria: the impact of light and carbon sources. *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 53, No. 5, pp. 539-545.
12. Kovač D., Babić O., Rašeta M., Šibul P., Janjušević LJ., Simeunović J. (2018): Antioxidant activity and phenolic profile in filamentous cyanobacteria: the impact of Nitrogen. *J Appl Phycol*. 30: 2337-2346.
13. Michele Greque de Morais, Bruna da Silva Vaz, Eteiele Greque de Morais and Jorge Alberto Vieira Costa (2015): Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 835761, 15 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/835761>.
14. Nik Amirah Mahizan, Shun-Kai Yang, Chew-Li Moo, Adelene Ai-Lian Song, Chou-Min Chong, Chun-Wie Chong, Aisha Abushelaibi, Swee-Hua Erin Lim, Kok-Song Lai (2019): Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules*, 24, 2631; doi:10.3390/molecules24142631.
15. Prakram Singh Chauha, Arunika Saxena (2016): Bacterial carrageenases: an overview of production and biotechnological applications. *3 Biotech*, 6:146 DOI 10.1007/s13205-016-0461-3.
16. Simeunović, J., Marković, S., Kovač, D., Mišan, A., Mandić, A., Svirčev, Z. (2012): Filamentous cyanobacteria from Vojvodina region as source of phycobiliprotein pigments as potential natural colorants. *Food and Feed Research* 39 (1): 23-31.
17. Shinichi Takaichi (2011): Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Marine Drugs*, 9, 1101-1118; doi:10.3390/md9061101.
18. Spolaore Pauline, Joannis-Cassan Claire, Duran Elie, Isambert Arsene (2006): Commercial application of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101, 2:87-96.
19. Svirčev Z. (2005): Mikroalge i cijanobakterije u biotehnologiji. Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, ISBN 86-7031-076-7, p.215.

20. Svircev, Z, Cetojevic-Simin, D, Simeunovic, J, Karaman, M, Stojanovic, D. (2008): Antibacterial, antifungal and cytotoxic activity of terrestrial cyanobacterial strains from Serbia. *Science in China Series C: Life Sciences* 51: 941-947.
21. Wells M.L., Potin P., Craigie J.S., Raven J.A, Merchant S.S., Helliwell K.E., Smith A.G., Camire M.E., Brawley S.H. (2016): Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J Appl Phycol*, DOI 10.1007/s10811-016-0974-5.
22. Yejin Jang , Heegwon Shin, Myoung Kyu Lee, Oh Seung Kwon, Jin Soo Shin, Yong-il Kim, Chan Woo Kim, Hye-Ra Lee, Meehyein Kim (2021): Antiviral activity of lambda-carrageenan against influenza viruses and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Scientific Reports*, 11:821, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80896-9>.
23. Yukinori Yabuta, Hiroko Fujimura, Chung Shil Kwak, Toshiki Enomoto and Fumio Watanabe (2010): Antioxidant Activity of the Phycoerythrobilin Compound Formed from a Dried Korean Purple Laver (*Porphyra* sp.) during in Vitro Digestion. *Food Sci. Technol. Res.*, 16 (4), 347 – 351.
24. Xiaohe Jin, Eric S. Miller, Jonathan S. Lindsey (2021): Natural Product Gene Clusters in the Filamentous *Nostocales* Cyanobacterium HT-58-2. *Life*, 11(4), 356; <https://doi.org/10.3390/life11040356>.

5. EKOLOGIJA CIJANOBAKTERIJA I ALGI

Cijanobakterije i alge imaju široko rasprostranjenje i mogu se naći u skoro svim sredinama u kojima, kao primarni producenti organske materije, zauzimaju ključno mesto i igraju značajnu ulogu u formiranju i funkcionisanju takvih ekosistema. Tokom dugog perioda evolutivnog razvoja zahvaljujući izuzetnoj metaboličkoj plastičnosti i adaptibilnosti uspešno su se prilagodile životu u različitim ekološkim uslovima, što je uslovalo pojavu velikog broja ekoloških grupa algi.

5.1. Staništa cijanobakterija i algi

Sve cijanobakterije i alge se na osnovu sredine koju naseljavaju mogu podeliti u četiri osnovne grupe: 1. **Akvatične** (a - slatkovodne i b- marinske), 2. **Terestrične**, 3. **Aerofitne/subaerofitne** (aeroterestrične), 4. **Alge neobičnih staništa – ekstremofilne alge**.

1) Akvatične alge naseljavaju slatkovodne (reke, potoci, jezera, akumulacije, rezervoare, močvare) i marinske ekosisteme (mora, okeani). S obzirom na način života u vodenim staništima ove alge se mogu svrstati u jednu od sledećih podgrupa: a) **plankton** i b) **bentos**.

Alge koje ceo svoj životni ciklus provode u slobodnoj vodenoj masi pripadaju fitoplanktonu. U fitoplanktonskoj zajednici su uglavnom zastupljeni jednoćelijske i kolonijske alge koje imaju niz morfoloških adaptacija prilagođenih za lebdenje u vodi. U okviru ove grupe razlikuje se **euplankton** -slobodno plivajuće alge (*Oscillatoria*, *Chlamidomonas*, *Cosmarium*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*) i **tihoplankton** -u početku razvoja pričvršćene, a kasnije se odvajaju od podloge i slobodno plivaju (*Cladophora*, *Oedogonium*, *Zygnema*, *Ulothrix*).

S obzirom na veličinu ćelija u okviru fitoplanktona je moguće razlikovati **mikroplankton** (20-200µm), **nanoplankton** (2-20 µm) i **pikoplankton** (<2 µm).

Bentosne alge provode svoj ceo životni ciklus na dnu vodenih ekosistema, kao pričvršćene (sesilne) ili slobodne forme. U slatkovodnom bentosu su najzastupljenije pršljenčice (*Chara*, *Nitella*), zelene (*Cladophora*, *Ulothrix*), silikatne i modro-zelene alge.

Marinski bentos uglavnom čine predstavnici mrkih (*Sargassum*, *Ectocarpus*), zelenih (*Ulva*, *Enteromorpha*, *Caulerpa*), crvenih (*Porphyra*, *Polysiphonia*, *Corallina*), silikatnih i modro-zelenih algi. Za razliku od slatkovodnih sredina, u marinskim ekosistemima se često sreću veoma krupni predstavnici makroalgi (talus preko 70 m dužine) poznati pod nazivom **kelp** (uglavnom predstavnici mrkih algi: *Macrocystis pirifera*, *Nereocystis*, *Laminaria*). Za njih je

svojstveno da svojim krupnim talusima formiraju podvodne šume i livide, pružajući stanište i zaštitu brojnim marinskim kičmenjacima i beskičmenjacima.

Značaj algi u vodenim ekosistemima je krucijalan s obzirom da od njihove aktivnosti zavisi stabilnost i funkcionisanje takvih ekosistema. Najvažnije među tim aktivnostima su: primarna produkcija organske materije, prva su karika u lancima ishrane, proizvode kiseonik, učesnici su u biogeochemijskim ciklusima kruženja elemenata u vodi, važni su činiooci procesa prečišćavanja voda, određene vrste vrše fiksaciju elementarnog azota, pružaju stanište i zaklon brojnim vodenim organizmima, važni su bioindikatori u monitoringu kvaliteta životne sredine.

2) Terestrične alge naseljavaju zemljište, stene, peščane i druge podloge. U zavisnosti od toga gde se razvijaju mogu se razlikovati **safofite** –na zemljištu, **kriptofite** –u zemljištu, **epilitne** – na stenama, **endolitne** –u stenama, **hazmolitne** –u pukotinama stena. Ukoliko se razvijaju na peskovitom zemljištu onda je moguće razlikovati **epidafne** (na površini podloge) i **endodafne** (u podlozi). Zemljišne alge su česte među predstavnicima žuto-zelenih algi (*Botrydium, Vaucheria*), zelenih algi (*Chlorella, Oedogonium*), cijanobakterija (*Nostoc, Anabaena, Tolypothrix, Calothrix, Scytonema, Oscillatoria, Phormidium*).

Zemljišne alge su uglavnom predstavnici mikroalgi koje se u povoljnim uslovima mogu masovno razvijati obrazujući prevlake i slojeve na površini zemljišta vidljive golim okom. Najveći broj vrsta i individua se nalazi u površinskim slojevima do dubine od 0 do 1cm. Sa porastom dubine opada diverzitet i brojnost algi, tako da se u dubljim slojevima (ispod 20 cm) javlja mali broj vrsta i/ili njihovih konzervacionih oblika, spora.

S obzirom na to da su kolebanja ekoloških faktora izraženija u zemljištu u odnosu na vodena staništa, zemljišne alge su razvile niz prilagođenosti takvim uslovima sredine (sluzavi omotači, obrazovanje spora, kratak ciklus razvika, fotoprotetivni pigmenti i dr.). Za zemljišne alge je posebno karakteristična sposobnost brzog prelaska iz neaktivnog stanja mirovanja u aktivno stanje i obrnuto.

Zemljišne alge imaju višestruku ulogu i značaj u terestričnim sredinama koje naseljavaju. Imaju ključnu ulogu u biogeochemijskom kruženju elemenata, u stvaranju humusa, lesa, vezuju pesak i čestice zemljišta sprečavajući eroziju, pomažu zadržavanju vlage u zemljištu, doprinose obogaćivanju zemljišta azotom (azotofiksacija) i proizvode bioaktivna jedinjenja poput fitohormona čime višestruko doprinose rastu i razvoju biljaka.

3) Aerofitne su one alge koje naseljavaju različite objekte koji se nalaze iznad zemlje i okružene su vazduhom. Takve alge se javljaju na kori i listovima biljaka, na životinjama, na fasadama zgrada, betonskim konstrukcijama, spomenicima, i nizu drugih veštačkih struktura i podloga. Na osnovu njihovog specifičnog staništa one se mogu podeliti na

epifite (žive na biljkama), **epifilne** (žive na listovima biljaka), **kortikozne** (naseljavaju koru i stabla biljaka), **epizoične** (žive na površini životinja), **endozoične** (u telu životinja), **litofilne** (na stenama i kamenju), **simbiontske** (u lišajevima). Najveći broj takvih algi pripada razdelima Cyanophyta i Chlorophyta, pri čemu se cijanobakterije češće javljaju u subtropskim regionima, a zelene su dominantnije u oblastima umerenog klimata. U okviru cijanobakterija među subaeralnim se mogu naći predstavnici različitih redova: 1) Chroococcales (*Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Gloeocapsa*, *Gloeothece*); 2) Oscillatoriales (*Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Planktothrix*, *Phormidium*); 3) Nostocales (*Nostoc*, *Calothrix*, *Scytonema*, *Rivularia*); 4) Stigonematales (*Stigonema*). Od zelenih algi najčešće se u ovu ekološku grupu ubrajaju predstavnici reda Trentepohliales (*Trentepohlia*, *Phycopeltis*, *Stomatochroon*, *Cephaleuros*).

Najznačajniji ekološki faktori koji utiču na razvoj i distribuciju ove grupe algi su svetlost, padavine i vlažnost vazduha.

Posebnu ekološku grupu algi čine one koje žive u specifičnim zajednicama sa drugim organizmima. S obzirom na način i složenost udruživanja alge mogu biti **epibionti** (epifite, epizoa) **endofitne**, **parazitne** i **simbiontne**. Epifitne alge ne ostvaruju tesnu vezu sa organizmom na površini kojeg se javljaju, a najčešće su to predstavnici cijanobakterija, zelenih i silikatnih algi. Na površini životinja, poput krzna lenjivaca i belih medveda, javljaju se epizoične alge pripadnici cijanobakterija i zelenih algi. Endofitne alge delimično ili potpuno prodiru u unutrašnjost biljnog organizma pri čemu zadržavaju svoju samostalnost. U okviru ove grupe su takođe najdominantnije cijanobakterije (npr. *Anabaena*, *Synechocystis*) i zelene alge (npr. *Chlorocytium*). Parazitskih algi ima malo i za njih je karakteristično da prodiru u unutrašnjost domaćina i zavisne su u nutritivnom pogledu od njega (npr. *Rhyllodium* i *Rhodochitrium* paraziti su viših biljaka). Simbionske alge stupaju u višestruko korisnu zajednicu sa različitim organizmima što se označava mutualizmom. Među endosimbiontskim algama treba istaći **zoohlozele** (*Chlorella* udružena sa hidrama), **zooksantele** (*Cryptomonas* u morskim radiolarijama) i specifične jedinice **cijanele** (cijanobakterije udružene sa protozoama ili vatrenim i zelenim algama u endosimbiontskom kompleksu-cianomu).

Sinergoza je specifičan, održiv odnos između određenih biotičkih i abiotičkih komponenti koje se nalaze u direktnom kontaktu i koje „imaju koristi“ jedne od drugih. Sinergoza je zamišljena kao bio-abioza i opisuje produktivnu efikasnost živih i neživih delova prirode kada oni „rade“ zajedno. Predstavlja blisku, dugoročnu, produktivnu, održivu i korisnu interakciju između biotičkih i abiotičkih komponenata povezanih u fizičku asocijaciju.

4) Ekstremofilne alge

Alge, uključujući i cijanobakterije, mogu da naseljavaju i negostoljubiva staništa koja se odlikuju nepovoljnim uslovima životne sredine. Alge ekstremnih staništa se označavaju ekstremofilnim algama i takve sredine su za njihov rast optimalne. Ekstremofili se u zavisnosti od karaktera njihovog okruženja i dominirajućeg faktora sredine, mogu klasifikovati u različite kategorije (prema ekstremnim temperaturama, pH, suši, salinitetu, UV zračenju i sl.). Pojedina staništa se odlikuju većim brojem ekstremnih faktora koji istovremeno deluju na alge, pri čemu se alge takvih sredina nazivaju poliekstremofilima. Većina istraživača smatra da su prokariotske alge odnosno cijanobakterije mnogo bolje adaptirane na nepovoljne i ekstremne uslove spoljašnje sredine u odnosu na eukariotske. Međutim, sve alge se mogu smatrati dobro adaptiranim organizmima zahvaljujući svojstvu oksigene fotosinteze, što im daje značajan udeo u primarnoj produkciji svetskog ekosistema.

U ovom delu biće ukratko dat prikaz ekologije i ekofiziologije algi koje se javljaju u ekstremnim vodenim i terestričnim staništima. Ekstremna staništa se generalno mogu podeliti u dva osnovna tipa:

a) Objektivno ekstremna ali stabilna staništa. To su staništa u kojima alge žive blizu granice njihovog fiziološkog potencijala. Životni procesi obezbeđuju algama adaptaciju na ekstremne uslove u kojima one mogu opstati duži vremenski period, čime je obezbeđen sukcesivni razvoj i selekcija uspešnih genotipova. Takva staništa su naseljena najbolje adaptiranim algama specifičnim uslovima koji vladaju u njima (npr. psihrofili – alge snega i leda, termofili –alge toplih izvora, acidofili –metafiton tresetnih močvara, halofili –alge zaslanjenih zemljišta i jezera). U ovom tipu stabilnog ekstremnog okruženja egzistencija algi može biti produžena i stabilna, ali u fluktuirajućim ekstremnim staništima metabolička cena opstanka može biti vrlo visoka kao i verovatnoća smrti i izumiranja.

b) Marginalna nestabilna staništa. Sezonska i dnevna variranja su izražena i u takvoj životnoj sredini stvaraju se teški uslovi pa alge moraju prevazići niz ekoloških obrazaca da bi ih zauzele. U marginalnim, nestabilnim staništima sezonske i dnevne promene uslova životne sredine su obično nagle i dramatične. Dobar primer predstavljaju životni uslovi sa kojima se sučavaju perifitonske alge polarnih reka i izvora, kao i kriptendolitne alge polarnih i toplih pustinja. Takvi obrasci uslova okruženja mogu se razlikovati u periodičnosti, amplitudi, sinhronizaciji i pravilnosti pojavljivanja, i mogu inicirati brojne različite adaptacije kod algi. Za dva najznačajnija ekološka faktora, svetlost i temperatura, dnevna variranja su nepravilna, dok su sezonske fluktuacije značajno pravilnije i zbog toga su i predvidljivije.

Međutim, u terestričnim i vodenim staništima, bilo da su prirodna ili su pod stalnim antropogenim uticajem, javljaju se mnogobrojne prolazne ekološke situacije kojima se alge moraju na adekvatan način prilagoditi. Sa tim u vezi u literaturi se najčešće pominju tri termina: **adaptacija-aklimatizacija-aklimacija**.

U slučaju algi, **adaptacija** podrazumeva genetički fiksiran (filogenetski) odgovor na uslove spoljašnje sredine (npr. dijatomeje snega i leda koje pripadaju rodovima *Synedra*, *Nitzschia*, koji su istovremeno i halofili prilagođeni niskoj temperaturi, nedostatku svetlosti i nutrijenata itd.).

Aklimatizacija podrazumeva ontogenetski odgovor algi na sporadične sezonske ekstremne uslove spoljašnje sredine kao što je niska temperatura ili suša (npr. rodovi *Stichococcus*, *Klebsormidium* i dr.).

Pod pojmom **aklimacija** se smatra odgovor algi na laboratorijske uslove tokom procesa kultivacije (npr. u kolekcijama kultura).

Mnogobrojne studije koje se odnose na algalnu ekologiju ukazuju na to da se diverzitet vrsta smanjuje sa povećanjem surovosti pojedinih ekoloških faktora u životnoj sredini. Alge, bilo da su pojedinačni organizmi u pitanju ili njihove grupacije (zajednice ili populacije) reaguju na stres različito. Neke vrste algi pripadaju onim mikroorganizmima koji su izuzetno osetljive na bilo koju vrstu stresa u životnoj sredini. Druge alge su međutim evoluirale sa tako visokom ekološkom plastičnošću da im ona omogućava napredovanje u skoro svim uslovima životne sredine. Njihov odgovor (adaptacija-aklimatizacija) promenama u spoljašnjoj sredini je obično veoma brz kako na nivou genotipa tako i na nivou fenotipa. One alge koje mogu održati najviši nivo asimilacije i imaju najuspešniji metabolizam, sposobne su da unaprede svoju fiziologiju tako da podese novi nivo homeostaze u izmenjenim uslovima životne sredine.

5.2. Ekološki faktori i alge

Velik broj ekološki faktora utiče na razvoj i distribuciju algalnih vrsta u različitim životnim sredinama. U ovom delu će biti dat kratak prikaz adaptacije i aklimatizacije cijanobakterija i algi prema ključnim faktorima životne sredine: visoka i niska temperatura, svetlost (UV zračenje), odnos prema vodi (i suši) i mineralnim solima (toksičnost), sa posebnim osvrtom na njihovu ekologiju i ekofiziologiju u terestričnim i vodenim staništima. Ti procesi su u poslednjih nekoliko decada intenzivno izučavani pre svega zbog klimatskih i antropogenih promena na nivou globalnog ekosistema. U staništima koje naseljavaju, alge su

istovremeno izložene delovanju različitih ekoloških faktora koji mogu međusobno interagovati u većoj ili manjoj meri i mogu imati sinergistički, aditivni ili inhibitoryni efekat.

5.2.1. Temperatura

Temperatura, svetlost i vlažnost su najvažnije determinante rasta algi. Svaki od tih faktora u određenim specifičnim okolnostima može biti limitirajući. Međutim najčešće su, naročito u marginalnim staništima, njihovi uticaju slučajni. Pojedine vrste algi mogu preživeti samo u okviru relativno uskog temperaturnog raspona. Najveći broj algi ima sličan temperaturni opseg kao i većina drugih mikroorganizama i viših organizama (30-40°C). Međutim, temperaturni limiti za rast (minimum, optimum i maksimum) kada su alge u pitanju se kreću od vrednosti koje su ispod nule pa do temperature ključanja. Tako na primer za alge snega i leda optimum za rast je temperatura od 1 °C, dok za pojedine termofilne cijanobakterije temperaturni optimum je oko 75 °C. Evidentno je da alge predstavljaju grupu organizama koja poseduje širok spektar ekoloških i fizioloških adaptacija-aklimatizacija koje im omogućavaju da prežive ili napreduju i u uslovima niskih i visokih temperaturnih ekstrema.

Prema temperaturnim optimumima za rast sve alge se mogu svrstati u jednu od sledeće tri grupe: **psihrofili** (i psihrotrofi - fakultativni psihrofili), **mezofili** i **termofili** (i termotrofi).

Psihrofilne alge su one koje imaju temperaturni optimum za rast ispod 15 °C a maksimalno tolerišu temperature ispod 20 °C. Psihrotrofi je termin koji se koristi za alge koje su sposobne za rast pri temperaturi oko 0 °C do 7 °C, imaju optimalni rast na temperaturama većim od 15 °C, dok je gornja granica u nekim slučajevima i 35 °C. Mezofilne alge imaju temperaturni optimum u opsegu od 20-45 °C, minimum je 15 °C, a maksimum je oko 45 °C. U poređenju sa psihrofilima i psihrotrofima, termofili i termotrofi imaju užu temperaturni raspon u okviru kog mogu da rastu. Termofilne alge nastanjuju sredine u kojima je temperatura u opsegu od 55-85 °C, pri čemu je minimum za rast temperatura od 45 °C, dok se optimalni rast javlja u uslovima od 55-65 °C. Hipertermofilne alge ispoljavaju optimalni rast pri temperaturama koje su između 85 i 113 °C i ne rastu na temperaturama nižim od 55 °C.

Bilo da žive u uslovima visoke ili niske temperature, alge moraju izmeniti ili redukovati intenzitet svojim metaboličkih procesa. Sposobnost preživljavanja u uslovima niskih temperatura se ispoljava prvenstveno zahvaljujući niskom nivou respiracije i kao posledica toga pozitivnog budžeta ugljenika. Promene u sastavu lipida u membranama je još jedan vid adaptacije-aklimatizacije na niske temperature. U tom slučaju nivo nezasićenosti i dužina lanaca masnih kiselina, kompozicija fosfolipida i prisustvo sterola u membranama mogu biti značajni indikatori procesa adaptacije-aklimatizacije hladnim uslovima u okruženju.

U uslovima visokih temperatura glavni problem koji se javlja na nivou ćelija algi predstavlja zaštita proteinskih komponenata od procesa denaturacije. Generalno, termofili poseduju stabilnije enzime koji su znatno otporniji prema visokim temperaturama. U sastavu proteinskih komponenti imaju više vodoničnih i drugih nekovaltnih veza, visok sadržaj amino-kiseline prolina što čini da polipeptidni lanci budu manje fleksibilni a više termostabilni. Takođe imaju ojačane i stabilne krupnije membranske strukture (više zasićene, više razgranate, veća molekularna masa) koje visoka temperatura ne može narušiti.

5.2.2. Svetlost

Svetlost je u poređenju sa drugim ekološkim faktorima jedan od najekstremnijih u pogledu varijacije u vremenu, kako u intenzitetu tako i u spektralnom kvalitetu. Varijacije tog tipa su uslovile značajne evolutivne promene na nivou fotosintetičkog sistema za sabiranje svetlosti u algalnim ćelijama, tako da su za alge građa fotosintetičkog aparata i sastav pigmenata važni taksonomski i filogenetski pokazatelji.

U vodenim sredinama alge se za svetlosnu energiju moraju takmičiti ne samo međusobno već i sa ostalim komponentama koje apsorbuju ili rasipaju svetlost. Takva kompeticija u vodenoj sredini, kao i u različitim terestričnim sredinama, uslovljava aranžman vertikalne distribucije algi i odgovarajući fotosintetički aparat za sabiranje svetlosti. Teorija **hromatske adaptacije** je verovatno jedna od prvih demonstracija ekološke adaptacije koja ukazuje na promenljivu spektralnu distribuciju u vodenoj sredini koja rezultira odgovarajućim vertikalnim rasporedom algi. Pod hromatskom adaptacijom se podrazumeva prilagođavanje, tačnije aklimatizacija kvalitetu i intenzitetu svetlosti, pri čemu se na nivou ćelije algi nakupljaju oni pigmenti koji imaju komplementarnu boju svetlosti kojom su ćelije osvetljene. Tačnije promenama svetlosnih uslova alge se aklimatizuju izmenama u ukupnoj količini i/ili odnosu određenih pigmenata. Tako se kod većine algi u uslovima senke javlja povećanje količine hlorofila koje je rezultat povećanja broja fotosintetičkih jedinica i udela fotosistema I i II. Osim promena na nivou pigmentnog sastava, dolazi i do smanjenja intenziteta disanja kao odgovor na smanjen intenzitet zračenja.

U svim vodenim sredinama, zračenje crvenog dela spektra brzo se smanjuje sa dubinom, dok na većim dubinama dominaciju preuzima svetlost plavo-zelenog i plavog dela spektra. Tako u dubokim vodama (dominantna svetlost zelenog dela spektra), prevladavaju mrke alge koje poseduju pigment fukoksantin ili određene vrste zelenih algi koje imaju pigment sifonoksantin. U najdubljim slojevima vodenog stuba gde je spektralni opseg svetlosti prilično uzak, crvene alge i cijanobakterije za koje je karakteristično da poseduju fikobilinske pigmente, postaju najuspešnije grupe algi.

Intenzitet sunčevog zračenja može da izazove i fotoinhibiciju, ili čak može izazvati fotooksidaciju na nivou algalne ćelije. U tom smislu ja najštetnije UV-B zračenje, koje može da izazive niz negativnih efekata, poput stvaranje slobodnih kiseoničnih radikala i oksidacije makromolekula. Međutim, alge sadrže pomoćne pigmente poput fikobiliproteina i karotenoida koji kao moćna antioksidantna jedinjenja štite ćeliju od oštećenja. Alge imaju nekoliko linija odbrane od neželjenog dejstva zračenja: izbegavanje, produkcija fotoprotektivnih pigmenata, identifikacija i reparacija DNK oštećenja i dr.

5.2.3. Dostupnost vode i osmotski pritisak

Promene u osmotskom pritisku okruženja utiče značajno na funkcionisanje algalne ćelije. Tokom svoje filogenije alge su bile izložene različitim vrstama stresa, pri čemu su dva tipa osnovna i povezana su sa nedostatkom vode (**fizička suša**) i visokim koncentracijama soli (**fiziološka suša**). Vodni stres je mnogo češći u slučaju terestričnih algi, dok je fiziološka suša lokalnog karaktera i javlja se obično u priobalnim regionima. U takvim sredinama (karakteristično je da natrijum-hlorid, druge soli, mateli i nutrijenti dostižu vrlo visok nivo) u mikrobijalnom sloju koji se formira, alge su glavna komponenta zajednica. Bilo da su u hipertoničnom ili hipotoničnom okruženju, alge su razvile određene mehanizme zaštite i mogu da održe osmotsku koncentraciju u citoplazmi zahvaljujući kompatibilnim rastvorenim supstancama (koje ne interferiraju sa metabolizmom i rastom kada su prisutni u visokoj koncentraciji u ćeliji). U ćelijama algi se obično nakupljaju sukroza i polioli (arabitol, glicerol, manitol) kao osmoprotektivna jedinjenja.

U pogledu zahteva prema koncentraciji soli alge se mogu podeliti u dve grupe: **oligohalobne** (obuhvataju podgrupe halofilne, halotolerantne i halofobne) i **euhalobne** (polihalobne i mezohalobne). Oligohalobne alge nastanjuju slatkovodne sredine u kojima koncentracija soli ne prelazi 0,5%, dok su euhalobne alge stanovnici marskih sredina i za svoj za rast zahtevaju veće koncentracije soli. Halofili, se mogu se naći u sredinama velikog saliniteta, poput eukariotskih algi kao što su *Dunaliella salina*, neke dijatomeje i *Galdiera sulphuraria* koja se može smatrati i halotolerantnom. Neke halofilne alge sintetišu i akumuliraju organska jedinjenja u svom citosolu, kao što je glicerol, koja uravnotežuju unutrašnji i spoljašnji osmotski pritisak i sprečavaju pojavu plazmolize.

Osim takvih prirodnih staništa sa visokom koncentracijom soli, postoje i brojni lokaliteti koji su zagađeni polutantima i emisijom iz različitih industrijskih postrojenja, a u kojima se alge manje ili više uspešno razvijaju. Alge koje se javljaju u hronično zagađenim sredinama (soli, teški metali, toksikanti) imaju tendenciju da akumuliraju takve supstance unutar ćelija, ponekad u opasnim količinama. Sadržaj polutanata u algalnim ćelijama se zbog toga može koristiti kao indikator zagađenja vode. S obzirom da su joni, uključujući i teške metale, potrebni ćeliji za obavljanje niza metaboličkih procesa, alge su razvile različite strategije kako bi izbegle i ublažile njihovo toksično delovanje. Takve adaptacije i strategije

preživljavanja su species-specifične (helacija organskih liganada, biotransformacija neorganskih jona u organske susptance, razlika u specifičnosti enzima, transporta jona, strukture i funkcije membrana i sl.). Za vodene alge desikacija je potencijalno mnogo opasnija u poređenju sa terestričnim algama.

5.2.4. pH vrednost

Alge rastu i u alkalnim (**alkalofili**) ili kiselim sredinama (**acidofili**). Alkalifili se javljaju na višim nivoima raspona pH kao što su na primer alkalofilna jezera u Africi, dok acidofili uspevaju u kiselim sredinama na nižim opsezima pH. Javljaju se, na primer, u kiselim toplim izvorima i napuštenim rudnici uglja. Među acidofilima su naročito česte eukariotske alge kao što su *Cyanidium caldarium*, *Galdiera sulfuraria* i određene dijatomeje.

5.3. Strategije preživljavanja cijanobakterija i algi u nepovoljnim uslovima sredine

Iznenadna promena parametara okoline generalno indukuje dve osnovne vrste odgovora kod cijanobakterija i mikroalgi: promene u njihovom metabolizmu i biohemijskom sastavu i/ili promene u njihovoj morfološkoj strukturi. Pored toga, neke vrste ili sojevi mogu promeniti fazu u svom životnom ciklusu (uobičajene sezonske varijacije za mnoge vrste fitoplanktona). Na primer, alga *Haematococcus* formira zelene vegetativne ćelije koje autotrofno rastu na svetlosti a heterotrofno u mraku. Stresori okoline, uključujući jaku svetlost, povećani salinitet ili nedostatak hranljivih materija kao što je azot, indukuju kod ove alge stvaranje cista. Ćelije menjaju morfologiju i životnu fazu. izgube bičeve i zaokružuju se. Njihov protoplast je obavijen blisko prilepljenom palmelarnom membranom, ćelije povećavaju zapreminu i počinju da sekundarno proizvode pigment astaksantin. Ovaj karotenoidni pigment ispoljava svojstvo antioksidanta i služi za zaštitu ćelijskih membrana i drugih osetljivih struktura od štetnog delovanja slobodnih radikala. Alge mogu da proizvedu više od 100 različitih karotenoida. Primarni karotenoidi se uglavnom sintetišu pod optimalnim uslovima rasta, dok je proizvodnja sekundarnih (keto) karotenoida (smeštena izvan hloroplasta), pojačana pod stresnim uslovima.

Procesi adaptacije i aklimatizacije cijanobakterija i algi različitim ekološkim uslovima se mogu sumirati u nekoliko glavnih manifestacija:

- a) Promene diverziteta vrsta u vremenu i prostoru (redukcija diverziteta vrsta, različite migratorne strategije i sl.)
- b) Promene u nivou i intenzitetu fizioloških i biohemijskih procesa (redukcija procesa fotosinteze, respiracije i dr.)

- c) Promene na nivou strukture/kompozicije bimembrana i kao posledica toga promene u njihovoj fluidnosti (ekstremno visoke i niske temperature, desikacija, toksičnost soli i teških metala i sl.)
- d) Produkcija specifičnih protektivnih supstanci (fotoprotektivni pigmenti i amino kiseline, enzimi za zaštitu od denaturacije, ugljeni hidrati ili hidrofobni proteini kao osmoprotektivna jedinjenja, antioksidativna jedinjenja, biotransformacija toksikanata u organska jedinjenja i sl.)

Izbegavanja: u prirodi mnoge vrste algi imaju sposobnost kretanja (aktivnog ili pasivnog) ili oscilatornih pokreta što je svojstveno npr. filamentoznim cijanobakterijama (npr. *Oscillatoria*, *Microcoleus*), što im obezbeđuje neometane promenu položaja u sredini u zavisnosti od dostupnosti vode i svetlosti čime „pronalaze“ povoljnije uslove životne sredine;

Rezistencija: mnoge alge i cijanobakterije proizvode sluz i UV zaštitne komponente poput pigmenta scitonemina, mikosporina i karotenoida. Scitonemin, pigment nerastvorljiv u vodi, lokalizovan je u ekstracelularnom polisaharidnom omotaču cijanobakterija i specifično je povezan sa vodenim „stresnim“ proteinom. Glikan koji čini osnovni matriks ekstracelularnih polimernih supstanci (EPS) obezbeđuje milje unutar koga su centralne komponente (vodeni „stresni“ protein, fotoprotektivni pigmenti - mikosporini i scitonemin) raspoređene na kompleksan način. Dijatomeje produkcijom sluzi stvaraju galertne drške kojima se pričvršuju za podlogu u okruženju koje im odgovara. Takođe za alge hladnih područja (psihrofilni) je karakteristično da njihove ćelijske membrane štite unutrašnji sadržaj selektivnom propustljivošću i često se na nivou ćelije sintetiše tkz. „antifriz“ jedinjenja kao adaptacija na niske temperature.

Fleksibilnost i aktiviranja mehanizama popravke: ukoliko gore pomenuta dva mehanizma nisu dovoljna da se izbegnu oštećenja nastala reaktivnim kiseoničnim vrstama (ROS), alge i cijanobakterije mogu angažovati mehanizme za popravku nastalih oštećenja u cilju preživljavanja.

Regulacije metaboličke aktivnosti tokom perioda isušivanja: proces isušivanja predstavlja složen mehanizam koji izrazito mali broj organizama može da preživi. Jedan od molekularnih mehanizama oštećenja koji dovodi do smrti nakon isušivanja kod ćelija osetljivih na sušu je „napad“ slobodnih radikala na molekule DNK, proteine i fosfolipide. S obzirom da u ćelijama cijanobakterija, fotosintetički elektron transportni lanac predstavlja izvor generisanja ROS-a regulacija metaboličke aktivnosti (respiracije i fotosinteze) izuzetno je bitna tokom rehidracije kao i tokom isušivanja. Upravo zbog toga, u cilju suzbijanja potencijalnog negativnog efekta ROS-a u isušanim kolonijama dolazi do inhibicije fotosintetičke aktivnosti. Kontrolisanje respiratorne aktivnosti na adekvatnom nivou tokom rehidracije važno je za pravilno uspostavljanje celularnog

metabolizma. Rehidracija predstavlja složen proces u kome je ekspresija određenih gena, naročito gena uključenih u metaboličke procese dramatično indukovana. Rehidracija sa druge strane nije jednostavan proces oporavka s obzirom da se nakon rehidracije mogu uočiti oštećenja DNK molekula i membrana. „Ahidrobioza“ predstavlja sposobnost određenih organizama otpornih na sušu da iz stanja bez metaboličke aktivnosti brzo povrate metaboličku aktivnost nakon rehidracije. Tako se neke vrste terestričnih cijanobakterija poput *Nostoc commune* smatraju ahidrobiotičkim mikoorganizmima sa oksigenim fotosintetičkim sposobnostima bez diferenciranja u akinete. Mehanizam ekstremne tolerancije na isušivanje kod ove vrste smatra se da uključuje više procesa poput produkcije ekstracelularnih polimernih supstanci (EPS), akumulacije kompatibilnih rastvora, regulacije fotosinteze i zaštite od UV zračenja. EPS imaju zaštitnu ulogu redukovanjem razmene vode sa okruženjem čime se sprečava gubitak vode i omogućava apsorbovanje vlage direktno iz atmosfere. Pored toga, kod vrste *Nostoc commune* egzopolisaharidi takođe doprinose zaštiti ćelijskih zidova i tilakoidnih membrana da ostanu intaktne i sprečavaju fuziju membranskih vezikula i time nastanak oštećenja ćelija prouzrokovan isušivanjem i ponovnim hidriranjem.

U cilju zaštite od štetnog delovanja slobodnih radikala alge proizvode širok spektar produkata (enzimski i neenzimski) koji deluju kao snažni antioksidantni na nivou ćelije.

Posedovanje osmoprotektivnih jedinjenja i održavanje niskog intracelularnog sadržaja neorganiskih jona: čak i pri visokim koncentracijama osmoprotektivna jedinjenja kompatibilna su sa ćelijskim metabolizmom i sposobna su da štite makromolekule od denaturacije i time da unaprede svoju funkciju odbrane od stresa u ćelijskom okruženju. Kod ahidrobiotičkih organizama dolazi do akumulacije trehaloze (α -D-glukopiranozil[1,1]- α -D-glukopiranozide) kao kompatibilnog rastvora. Trehaloza štiti biološke membrane i proteine od štetnih efekata uklanjanja vode tako što zamenjuje molekule vode i formira amorfne strukture (proces poznat kao vitifikacija). Kod vrste *N. commune*, akumulacija trehaloze javlja se kao odgovor na gubitak vode tokom isušivanja i nalazi se pod kontrolom povratne sprege regulacije enzima trehalaze. Kod određenih grupa algi se na nivou ćelije mogu naći osmoliti, organske rastvorene materije niske molarnosti (aminokiseline, tercijerni sulfonijum, kvarterna amonijumova jedinjenja, šećeri i polihidrovan alkoholi). Takva jedinjenja su karakteristična za halofilne vrste i osnovni cilj im je da uravnoteže osmotski potencijal jona Na^+ i Cl^- akumuliranih u vakuoli. Pored uloge u osmoregulaciji, osmoliti imaju važnu ulogu u uklanjanju slobodnih kiseoničnih radikala i zaštiti ćelijskih komponenata.

Glavne ekološke grupe cijanobakterije i alge se na osnovu sredine koju naseljavaju dele na: 1. Akvatične (a - slatkovodne i b- marinske), 2. Terestrične, 3. Aerofitne/subaerofitne (aeroterestrične), 4. Alge neobičnih staništa – ekstremofilne alge. Akvatične alge naseljavaju slatkovodne (reke, potoci, jezera,

akumulacije, rezervoare, močvare), brakične i marinske ekosisteme (mora, okeani). S obzirom na način života pripadaju planktonu (fitoplankton) ili bentosu (fitobentos).

Terestrične alge naseljavaju zemljište, stene, peščane i druge podloge. U zavisnosti gde se razvijaju razlikuju se safofite –na zemljištu, kriptofite –u zemljištu, epilitne- na stenama, endolitne –u stenama, hazmolitne-u pukotinama stena. Ukoliko se razvijaju na peskovitom zemljištu onda je moguće razlikovati epidafne (na površini podloge) i endodafne (u podlozi).

Aerofitne alge naseljavaju različite objekte koji se nalaze iznad zemlje i okružene su vazduhom, a mogu biti epifite (žive na biljkama), epifilne (žive na listovima biljaka), kortikozne (naseljavaju koru i stabla biljaka), epizoične (žive na površini životinja), endozoične (u telu životinja), litofilne (na stenama i kamenju), simbiotske (u lišajevima).

Ekstremofilne alge i cijanobakterije, naseljavaju i negostoljubiva staništa koja se odlikuju nepovoljnim uslovima životne Ekstremofili se u zavisnosti od karaktera njihovog okruženja i dominirajućeg faktora sredine, mogu klasifikovati u različite kategorije (prema ekstremnim temperaturama, pH, suši, salinitetu, UV zračenju i sl.). Pojedina staništa se odlikuju većim brojem ekstremnih faktora koji istovremeno deluju na alge, pri čemu se alge takvih sredina nazivaju poliekstremofilima.

Adaptacija podrazumeva genetički fiksiran (filogenetski) odgovor algi na uslove spoljašnje sredine. Aklimatizacija podrazumeva ontogenetski odgovor algi na sporadične sezonske ekstremne uslove spoljašnje sredine kao što je niska temperatura ili suša. Pod aklimacijom se smatra odgovor algi na laboratorijske uslove tokom procesa kultivacije. Ključni faktori koji utiču na rast algi i cijanobakterija su svetlost, temperatura, dostupnost vode i nutrijenata i pH.

Procesi adaptacije i aklimatizacije cijanobakterija i algi različitim ekološkim uslovima se mogu sumirati u nekoliko glavnih manifestacija: a) Promene diverziteta vrsta u vremenu i prostoru, b) promene u nivou i intenzitetu fizioloških i biohemijskih procesa, c) promene na nivou strukture/kompozicije bimembrana i kao posledica toga promene u njihovoj fluidnosti, d) produkcija specifičnih protektivnih supstanci.

Literatura:

1. Elster J (1999): Algal versatility in various extreme environments. In: Enigmatic microorganisms and life in extreme environments, Seckbach J. (ed.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p. 215-227.
2. Hoffmann, L. (1989): Algae of terrestrial habitats. Bot Rev, 55: 77-105.
3. Higo, A., Ikeuchi, M., Ohmori, M. (2008): cAMP regulates respiration and oxidative stress during rehydration in *Anabaena* sp. PCC 7120. FEBS Letters 582: 1883-1888

4. [Inès Slama](#), [Chedly Abdelly](#), [Alain Bouchereau](#), [Tim Flowers](#), [Arnould Savouré](#) (2015): Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*, Volume 115, Issue 3, Pages 433–447.
5. Matsui, K., Nazifi, E., Kunita, S., Wada, N., Matsugo, S., Sakamoto, T. (2011): Novel glycosylated mycosporine-like amino acids with radical scavenging activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 105: 81-89
6. Oliver, A.E., Leprince, O., Wolkers, W.F., Hinch, D.K., Heyer, A.G., Crowe, J.H. (2001): Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. *Cryobiology* 43: 151-167.
7. Crowe, L.M. (2002): Lessons from nature: the role of sugars in anhydrobiosis. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology* 131: 505-513.
8. Potts, M. (2001): Desiccation tolerance: a simple process? *Trends in Microbiology* 9: 553-559.
9. Rindi, F. (2011): Terrestrial green algae: systematics, biogeography and expected responses to climate change. In Hodkinson T.R., Jones, M.B., Waldren, S. and Parnell, J.A.N. (eds.) *Climate Change, Ecology and Systematics*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 201-227.
10. Nagasathya, A., Thajuddin, N. (2008): Cyanobacterial diversity in the hypersaline environment of the salt pans of southeastern coast of India. *Asian Journal of Plant Sciences* 7: 473-478.
11. Sakamoto, T., Yoshida, T., Arima, H., Hatanaka, Y., Takani, Y., Tamaru, Y. (2009): Accumulation of trehalose in response to desiccation and salt stress in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Phycological Research* 57: 6673.
12. Seckbach Joseph (2007): *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. In: *Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, Vol. 11, Springer, Dordrecht, the Netherlands, ISBN 978-1-4020-6111-0.
13. Simeunović J. (2005): Kolekcija kultura cijanobakterija. Andrejević K. i Andrejević T.(eds). Beograd, Biblioteka Academia, Zadužbina Andrejević, ISBN 86-7244-479-5, str.102.
14. Simeunović, J., Bešlin, K., Svirčev, Z., Kovač, D., Babić, O. (2013): Impact of nitrogen and drought on phycobiliprotein content in terrestrial cyanobacterial strains. *Journal of Applied Phycology* 25 (2): 597-607.
15. Stevenson R. Jan, Max L. Bothwell, Rex L. Lowe (1996): *Algal Ecology-Freshwater Benthic Ecosystems*. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA, ISBN 0-12-668450-2, p. 753.
16. Svirčev Zorica, Slobodan B. Markovic, Thomas Stevens, Geoffrey A. Codd , Ian Smalley, Jelica Simeunovic, Igor Obreht, Tamara Dulic, Dijana Pantelic, Ulrich

- Hambach (2013) Importance of biological loess crusts for loess formation in semi-arid environments. *Quaternary International*, 296:206-215.
17. Willey M. Joanna, Sherwood M. Linda, Woolverton J. Christopher (2009): Prescott's Principles of Microbiology. McGraw-Hill Companies, NY, USA, ISBN 978-0-07-128367-0, p.847.
 18. Wright, D.J., Smith, S.C., Joardar, V., Scherer, S., Jervis, J., Warren, A., Helm, R.F., Potts, M. (2005): UV irradiation and desiccation modulate the three-dimensional extracellular matrix of *Nostoc commune* (cyanobacteria). *The Journal of Biological Chemistry* 280: 40271-40281

6. CVETANJE CIJANOBakterija

6.1. Prepoznavanje cvetanja cijanobakterija

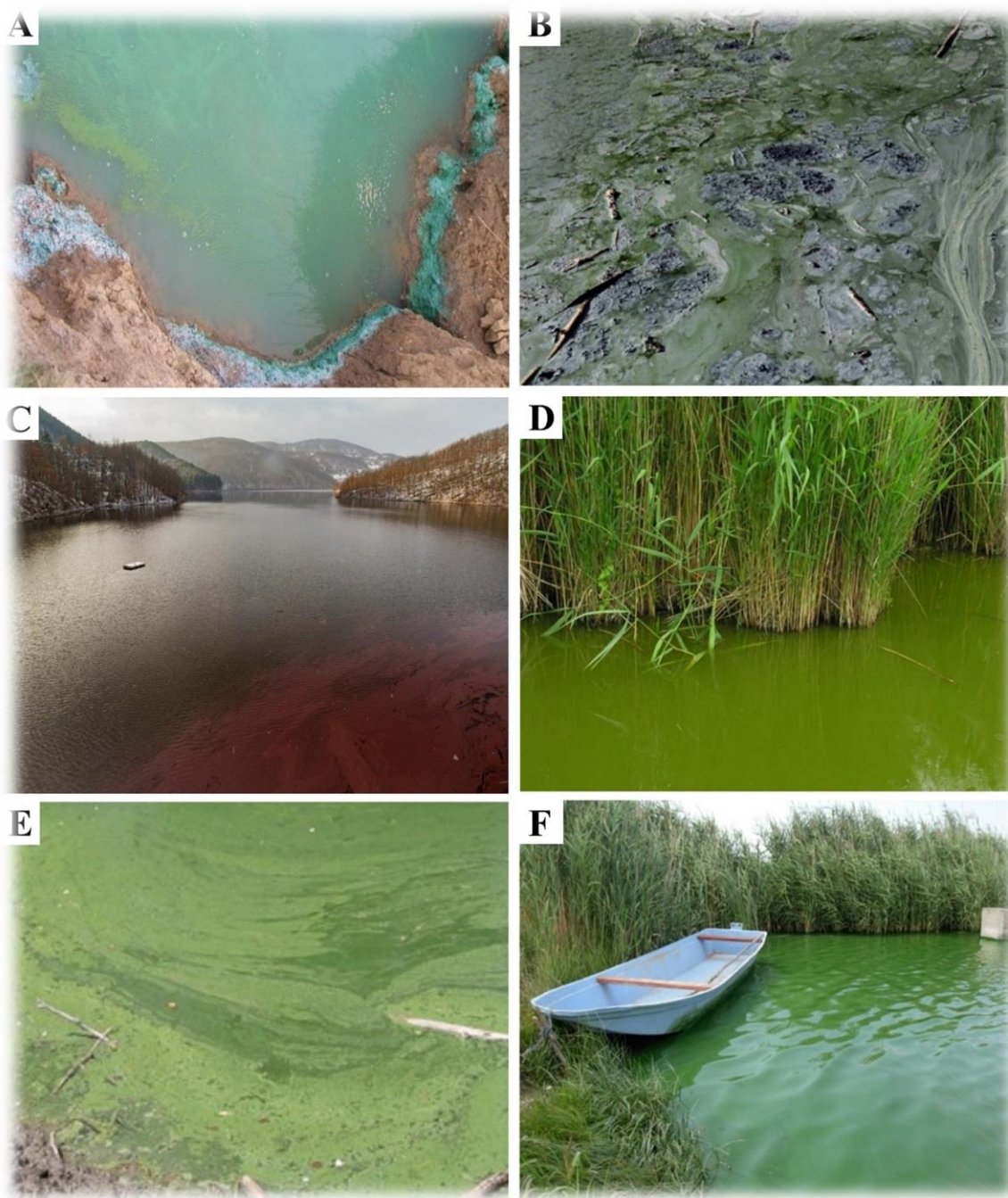
Cijanobakterije se najčešće ne primećuju u vodi, ali ponekad mogu formirati vidljive kolonije ili združene filamente. Kada su u vidljivoj formi, cijanobakterije se greškom mogu zameniti sa takozvanom „žabokrečinom“. Naglo razmnožavanje ćelija i masovno razviće cijanobakterijske biomase, koje se manifestuje kao vidljiva nakupina na površini vode ili kao odsustvo providnosti uz naglašenu plavo-zelenu boju, predstavlja **cvetanje cijanobakterija**. "Cvetanje" se definiše kao pojava u vodenim ekosistemima kada je proliferacija jedne ili nekoliko vrsta cijanobakterija masovna, odnosno kada je koncentracija cijanobakterijskih ćelija veća od 10.000 u mililitru vode¹.

Zbog veoma česte sinteze i oslobađanja toksina tokom i nakon cvetanja, ova pojava se naziva i „opasno cijanobakterijsko cvetanje“ poznato u literaturi kao cyanohabs (*cyanobacterial harmful blooms*). Obojeno cvetanje toksičnih morskih cijanobakterija se naziva i „crvena plima“ (*red tides*)².

Pre pojave cvetanja, cijanobakterije nisu vidljive u vodenom ekosistemu. Pri povoljnim uslovima sredine dolazi do povećanja gustine populacije što se odražava na izdvajanje jasno vidljive plavozelene biomase na površini vode u formi plutajućih nakupina. Cijanobakterijsko cvetanje može da liči na obojenu penu, površinsku skramu, tanki „zamašćeni“ sloj ili bilo koji drugi oblik nakupina biomase na površini vode. Kada je cvetanje veoma izraženo, mogu se formirati solidne grudvaste formacije debljine do nekoliko centimetara. Gusto cijanobakterijsko cvetanje ponekad može da podseća na potaž od graška ili zeleni mlečni napitak. U zavisnosti od vrste i sezone cvetanja mogu se pojaviti i homogene jednoboje nakupine biomase koje podsećaju na obojenu zaleđenu površinu vode. Cvetanje može da bude plavo, svetlo plavo, plavo-zeleno, zeleno, svetlo zeleno, mrko ili crveno i ostavlja utisak prosute boje zadržane na površini vode (Slika 37). Sveže cvetanje ima miris pokošenog sena i trave, a starije cvetanje se neprijatno oseća na raspadanje organske materije. Miris tokom cvetanja uglavnom potiče od jedinjenja geosmina i 2-metilisoborneola i moguće ga je osetiti pri koncentracijama ovih supstanci od 5 i 10 ng/L, ponekad i pre nego što cvetanje postane vidljivo³. Nakupine cijanobakterija na površini vode mogu biti razbijene delovanjem talasa ili vetrom, raznete po celom vodenom ekosistemu i naknadno nagomilane uz obalu vodenog ekosistema.

Cvetanja cijanobakterija koja posebno izazivaju pažnju javnosti se dešavaju u jezerima i akumulacijama za vodosnabdevanje, navodnjavanje, rekreaciju i u ribnjacima (Slika 37).

6. CVETANJE CIJANOBAKTERIJA



Slika 37. Cvetanje cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje: (a) Čelije, leto 2002. godine, (b) Bovan, jesen 2002. godine, (c) Vrutci, zima 2013. godine; u jezeru namenjenom za rekreaciju: (d) Ludaš, proleće 2006. godine; u kanalskom hidrosistemu namenjenom za navodnjavanje: (e) kanal Dunav-Tisa-Dunav, jesen 2006.godine; i u (f) ribnjaku u Vojvodini, leto 2012. godine.

Najveći problem vezan za pojavu cvetanja vode u ovim vodenim ekosistemima jeste produkcija toksičnih sekundarnih metabolita cijanobakterija. Ovi opasni produkti se nazivaju cijanotoksini⁴. To su visoko aktivne toksične supstance koje su rizične po druge

mikroorganizame, biljke, divlje i domaće životinje, mogu da dovedu do ozbiljnih zdravstvenih problema i kod ljudi, a registrovani su i smrtni slučajevi.

6.2. Faktori koji utiču na pojavljivanje i trajanje cvetanja

Cvetanja predstavljaju prirodnu pojavu, međutim, ubrzana eutrofizacija i klimatske promene utiču na povećanje njihovog intenziteta, dužine trajanja i učestalosti. Iako se pod terminom "cvetanje" uglavnom podrazumeva akumulacija biomase na površini vode, cijanobakterijska cvetanja se često prostiru kroz fotičnu zonu, epilimnion ili čitav vodeni stub.

Nagli rast cijanobakterijske biomase i ubrzano razmnožavanje su favorizovani u vodenim ekosistemima bogatim mineralnim i organskim materijama, kao što su eutrofna jezera, bare, sporotekuće eutrofne vode, sistemi za navodnjavanje, kanali, ribnjaci, kao i morski i brakični ekosistemi. Kada su uslovi povoljni (bogatstvo organskih materija, kombinacija specifičnih mikro i makroelemenata, odgovarajuća temperatura) "čista" površina vode postaje za samo nekoliko sati zamućena i prekrivena izrazito zelenom, plavo-zelenom ili crveno-braonkastom biomasom cijanobakterija⁵.

Faktori koji utiču na nagli razvoj cijanobakterijske biomase i razmnožavanje su temperatura između 21°C i 27°C, pH vrednost od 6 do 9, slaba osvetljenost, stabilnost vodenog stuba, nizak odnos N:P, povećana koncentracija CO₂ u atmosferi, kao i povećanje ukupnog kapaciteta vodenih ekosistema⁶. Sposobnost da apsorbuju i skladište veće količine fosfora im omogućava povećanje biomase i do 4 puta, kao i cvetanje u periodima kada je fosfor limitirajući faktor. Cijanobakterije nemaju zahteve za organskim mikronutrijentima (vitaminima) poput većine fitoplanktonskih grupa, nego uglavnom preferiraju neorganske mikronutrijente, poput metala u tragovima⁵. U tom smislu su posebno značajni molibden i gvožđe, jer je molibden neophodan za sintezu enzima nitrogenaze koji omogućava azotifikaciju, a gvožđe intenzivira fotosintezu cijanobakterija u uslovima slabe osvetljenosti. Povećanim prilivom gvožđa favorizuje se njihova zastupljenost u odnosu na zelene alge, što pored brojnih negativnih efekata, ima za posledicu i promenu sastava fitoplanktonske zajednice. Pored toga, u eutrofnim jezerima cijanobakterije imaju bolju kinetiku usvajanja CO₂, što im daje kompetitivnu prednost u odnosu na drugi fitoplankton. Dominacija cijanobakterija u vodenom ekosistemu može biti rezultat i uginuća faune koja se njima hrani, zbog priliva raznih toksičnih supstanci, teških metala, mikrobnih patogena i drugih zagađivača. Kada su uslovi za rast ispunjeni, na površini vode se može akumulirati gusta biomasa cijanobakterija u roku od nekoliko sati, pa čak i minuta.

Vodeni ekosistem ne može podržavati izrazito gustu populaciju cijanobakterija duže od nekoliko sati do nekoliko dana, tako da dolazi do naglog izumiranja ćelija. Cvetajuća populacija iščezava nakon 1-2 nedelje, ali sa održavanjem povoljnih uslova za masovni

razvoj može se desiti ponovno cvetanje iste ili drugih vrsta, omogućavajući smene i preklapanja cvetajućih događaja. Na taj način neki ekosistemi imaju cvetanja koja kontinuirano traju i po nekoliko meseci. Cijanobakterijsko cvetanje najčešće počinje početkom juna i može potrajati do kraja septembra – u periodu kada se temperatura vode kreće od 21 °C do 27 °C. Pored cvetanja u letnjim mesecima, masovni razvoj se može pojaviti tokom bilo kog drugog perioda u godini, čak i u uslovima prisutnog ledenog pokrivača⁵.

6.3. Zašto je cvetanje cijanobakterija opasno?

Sa sve većim povećanjem brojnosti cijanobakterija smanjuje se providnosti vode i blokira prodor sunčevih zraka, čime se sprečava proces fotosinteze, a samim tim dolazi i do smanjenja količine kiseonika u vodi. Kada se potroše zalihe jednog ili više neophodnih elemenata za rast, cijanobakterije počinju da odumiru. Kao posledica toga dolazi do intenzivnih procesa truljenja koji zahtevaju dodatnu potrošnju kiseonika. Koncentracija kiseonika se dalje smanjuje i to naročito noću, što može prouzrokovati nedostatak kiseonika za ostala živa bića u vodi. Ovakva hipoksija, a u težim slučajevima i anoksija, naročito u dubljim slojevima vode, može da dovede do masovnog uginuća aerobnih organizama. Pored toga, cvetanje dovodi do destrukcije staništa riba i školjki zbog zasenčivanja submerzne vegetacije i smanjenja providnosti, što otežava lov predatorskim vrstama⁷.

Mikrocistini i drugi cijanotoksini najčešće se oslobađaju u spoljašnju sredinu tokom letnje sezone. Iz ćelije se mogu oslobađati pasivno - liziranjem ili apoptozom, ili se aktivno otpuštaju u vodenu sredinu⁶. Oslobođeni toksini mogu da dođu u kontakt sa velikim brojem akvatičnih organizama, uključujući fitoplankton, zooplankton, faunu dna, ribe i vodene biljke. Vodeni organizmi mogu na razne načine da dođu u kontakt sa cijanobakterijama i njihovim toksinima koji mogu da utiču na njihov rast, razvoj, reprodukciju i preživljavanje.

Cijanobakterije u vodi mogu na više načina da utiču na zooplankton. Uočena je akumulacija mikrocistina u zajednici zooplanktona, posebno u umerenim zonama. Populacija vrste *Aphanizomenon issatschenkoi* utiče na zdravlje i rast jedinki *Daphnia magna*, zbog toksina koje proizvodi i zato što je filamentozna vrsta i kao takva neodgovarajuća u ishrani dafnija¹⁴. Prilikom dugotrajnog izlaganja visokim dozama mikrocistina, dolazi do oksidativnog stresa kod *Daphnia*. Populacija *Cylindrospermopsis raciborskii* značajno inhibiše rast jedinki vrste *Daphnia magna*. Detektovani su mikrocistini i u račićima *Bosmina* sp.. Bosmine i dafnije koje se hrane toksičnim cijanobakterijama često su veoma osetljivije na prisustvo cijanotoksina, a može doći i do akumulacije mikrocistina u ovim organizmima.

6. CVETANJE CIJANOBAKTERIJA

Nodularin je pronađen u uzorcima kopepoda *Eurytemora affinis* iz Baltičkog mora za vreme cijanobakterijskog cvetanja što ukazuje na njegovu akumulaciju u tkivu ove vrste. Neke kopepode imaju sposobnost da razlikuju toksične od netoksičnih cijanobakterija, što im omogućava da izbegnu intoksikaciju. Protozoe su veoma bitna karika u vodenim lancima ishrane. Uočeno je da flagelate i cilijate mogu da se hrane jednoćelijskim kokoidnim i filamentoznim cijanobakterijama. Brojnost i stope rasta *in situ* populacija heterotrofnih nanoflagelata bile su smanjene usled cvetanja toksičnog mikrocistisa u eutrofnim jezerima⁸. Toksičnost cijanobakterija na protozoama je eksperimentalno demonstrirana tokom istraživanja uticaja sadržaja liofilizovanih ćelija cijanobakterija na aktivnost cilijate *Paramecium caudatum*, pri čemu je konstatovano smanjenje stope rasta i izvestan stepen smrtnosti u zavisnosti od koncentracije mikrocistina. Četiri varijante mikrocistina su takođe inhibisale stopu rasta i uticale na smanjenje gustine protozoe *Tetrahymena pyriformis*, kao i inhibiciju respiracije koja je zavisila od vremena izlaganja i doze.

Značajan mortalitet hironomida, oligoheta i larvi ceratopogonida, raka (*Orconectes limosus*) i bivalvija (*Anodonta piscinalis* i *Unio tumidus*) uočen je tokom intenzivnog cvetanja cijanobakterija i proizvodnje toksina od strane *Aphanizomenon flos-aquae*. Laboratorijska istraživanja potvrdila su toksičnost hepatotoksina na larve i adulte komaraca (*Aedes aegypti* i *Culex pipiens*). Mikrocistis je bio toksičan za larve (*Plutella xylostella*, *Spodoptera littoralis*, *Pieris brassicae*) i adulte (*Musca domestica*) terestričnih insekata. U vodenim sredinama, grupa organizama koja je najpodložnija delovanju toksičnih cijanobakterija su sesilne bivalvije koje se hrane filtriranjem. Saksitoksini iz vrste *Anabaena circinalis* koja se javlja u slatkovodnim ekosistemima Australije mogu da se akumuliraju u dagnjama izloženim cvetanju, a detektovana je i akumulacija mikrocistina u školjkama iz jezera u Japanu i Kanadi. Takođe, cilindrospermopsin je pronađen u hemolimfi, utrobi, gonadama i stopalu bivalvija⁹. U marinskim ekosistemima saksitoksini su detektovani u ostrigama (*Pinctada maxima*), a mikrocistini u hepatopankreasu, utrobi, gonadama, škrgama i stopalu slatkovodnog puža (*Bellamyia aeruginosa*), u slatkovodnim račićima (*Palaemon modestus*, *Macrobrachium nipponensis*) i kod crvenog močvarnog račića (*Procambarus clarkii*).

S obzirom da su na vrhu akvatičnog lanca ishrane, ribe su najviše izložene cijanotoksinima. Ribe mogu biti izložene cijanotoksinima na dva načina:

- aktivnim unošenjem oralnim putem, preko hrane, konzumacijom samih ćelija cijanobakterija (posebno u slučaju fitoplanktivornih vrsta) ili drugih organizama koji su akumulirali cijanotoksine;
- pasivnim unošenjem, direktnim kontaktom epitela i škrge sa okolnom vodom u kojoj se nalaze toksini.

U prirodi je najčešća kombinacija oba načina ekspozicije, nakon čega se toksini distribuiraju u telu i akumuliraju u različitim organima¹⁰, zbog čega se nameće mogućnost prenosa

bioakumuliranih cijanotoksina u tkivima ribe putem lanaca ishrane do čoveka. O uticaju cijanotoksina na ribe, kao i izloženosti ljudi cijanotoksinima preko lanaca ishrane konzumacijom ribe i drugih akvatičnih organizama biće detaljno razmatrano u potpoglavlju 8.3.

Primećeno je da, kako submerzne tako i emerzne akvatične biljke usvajaju mikrocistine i akumuliraju ih u svojim tkivima¹¹. Inhibicija rasta vodenih biljaka *Spirodela oligorrhiza* i *Ceratophyllum demersum*, smanjenje sadržaja hlorofila *a* i *b* u tkivima kao i smanjenje efikasnosti fotosinteze primećeno je nakon dejstva mikrocistina. Slobodnoplutajuća biljka *Lemna minor* izlagana je anatoksinu-a usled čega je došlo do povišenja peroksidazne aktivnosti i aktivnosti glutation S-transferaze, dok je fotosintetska produkcija bila smanjena.

Neke vrste cijanobakterija proizvode toksine koji mogu da izazovu ozbiljne zdravstvene posledice ne samo kod životinja nego i kod ljudi, posebno ukoliko do cvetanja dođe u izvorštima vode za piće i u vodi koja se koristi za navodnjavanje, ribolov i rekreaciju. S obzirom na to da su cijanotoksini bezbojni, bez mirisa i ukusa, njihovo prisustvo se ne prepoznaje od strane korisnika vodenog ekosistema¹². Neki toksini poput mikrocistina i saksitoksina su toliko potentni i stabilni da su svrstani u kategoriju biohemijskog oružja. Kako cijanotoksini mogu da izazovu zdravstvene probleme kod ljudi i životinja i mogu biti letalni u relativno malim količinama, veliki oprez mora biti prisutan uvek kada se cvetanje desi. Očigledan znak da je cijanobakterijsko cvetanje toksično je pojava većeg broja uginule ribe ili drugih životinja u vodi i na obali vodenog ekosistema. Svaka iznenadna i na drugi način neobjašnjiva bolest ili uginuće životinja u blizini cvetajućeg vodenog ekosistema predstavlja značajnu sumnju na prisustvo cijanotoksina u vodi, posebno ako su na uginulim životinjama nađeni tragovi cijanobakterija. Cvetanje cijanobakterija predstavlja sve veći problem koji zaslužuje mnogo više pažnje u krugovima naučnika, kao i zalaganja šire društvene zajednice prilikom uvođenja mera prevencije i rešavanja problema nastalih usled cvetanja ovih mikroorganizama¹³. U mnogim zemljama su uvedene zakonske smernice koje se odnose na različite puteve ekspozicije, a posebno na prisustvo cijanotoksina u vodi za piće.

6.4. Ekonomski aspekti procena štete izazvane cvetanjem cijanobakterija

Cvetanja mikroalgi i cijanobakterija imaju značajan uticaj na ekonomiju, naročito u sektoru zdravstvene zaštite, komercijalnog ribarstva, rekreacije i turizma, monitoringa i upravljanja vodenim ekosistemima¹⁴ (Tabela 4):

Tabela 4. Procena godišnjeg uticaja cvetanja mikroalgi i cijanobakterija na ekonomiju u SAD-u tokom perioda 1987- 1992

Sektor	Prosečna vrednost troškova (\$)/godišnje	% od ukupne vrednosti troškova
Javno zdravlje	22.202.597	45%
Komercijalno ribarstvo	18.407.948	37%
Rekreacija/turizam	6.630.415	13%
Monitoring/upravljanje	2.088.885	5%
Ukupno:	49.329.845	100%

Kao što se vidi u Tabeli 4., toškovi zdravstvene zaštite čine skoro polovinu svih ukupnih troškova nastalih kao posledica cvetanja. Ispitivanja zdravstvenog stanja i medicinski tretmani predstavljaju značajan deo troškova, a bolesti ljudi kao posledica izlaganja cijanotoksinima rezultiraju gubitkom plata i radnih dana. U Australiji je takođe izvršena procena troškova cvetanja mikroalgi i cijanobakterija³¹. Identifikovane su ugrožene grupe korisnika vode, kao i direktni i indirektni finansijski gubici koji se vezuju za navedeni problem. Procenjeno je da troškovi zaštite životne sredine koji se mogu pripisati cvetanju cijanobakterija iznose 121-240 miliona dolara godišnje i uključuju: upravljanje otpadnom i atmosferskom vodom, poljoprivredom i rehabilitacijom zemljišnih i vodenih resursa. Smatra se da troškovi cvetanja mogu biti nekoliko puta veći od troškova zaštite životne sredine, zbog toga što se u životnu sredinu ulaže tek onda kada to može da umanjati nastale izdatke zbog cvetanja. Pored toga, predviđene investicije za zaštitu životne sredine neće sprečiti cvetanje ako ne budu planske, dugoročne i održive. Implementacija programa za smanjenje količine nutrijenata u ugroženim vodenim ekosistemima mogla bi da dovede do poboljšanja kvaliteta vode, što bi za posledicu imalo povratak turista i porast upotrebne vrednosti vodenog ekosistema usled smanjenja učestalosti cvetanja. Cvetanje se odražava na ekonomiju kroz gubitak akvakultura i estetske i turističke vrednosti vodenih ekosistema. Masovno cvetanje koje se pojavilo u Hong Kongu 1998.godine je uništilo 90% zaliha ribnjaka i rezultiralo je gubitkom od 40 miliona dolara¹⁵.

Učestalost cvetanja štetnih cijanobakterija je u porastu širom sveta poslednjih nekoliko decenija. Vodeni ekosistemi se menjaju usled prirodnih i antropogenih efekata, a cijanobakterije pokazuju značajne ekofiziološke adaptacije. Antropogene aktivnosti poput povećanja koncentracije nutrijenata, porasta CO₂, povišenja temperature i vertikalne stratifikacije, dovode do dominacije cijanobakterija u velikom broju vodenih ekosistema, kao i širenja invazivnih vrsta¹⁶.

6.5. Stanje u svetu

Cvetanje cijanobakterija je registrovano u svim delovima sveta, od severa Norveške i Finske do Australije. Masovna cvetanja i trovanja cijanotoksinima su do sada opisana na svim kontinentima, u svim zemljama Evrope¹⁷. Moguće je da najstariji podatak o pojavi prenamnožavanja cijanobakterija i algi potiče još iz perioda dinastije Han u Kini pre 1000 godina, kada je zabeleženo da je rečna voda bila izrazito tamno zelene boje¹⁷.

Objavljen je veliki broj radova o pojavi cijanotoksina u vodenim ekosistemima širom sveta. Registrovano je 869 slatkovodnih ekosistema iz 66 zemalja u kojima su cvetajuće cijanobakterije proizvele značajne količine cijanotoksina. Sakupljeni podaci su bili najčešći za jezera (60% od ispitanih ekosistema), akumulacije (13%), reke (8%) i bare (8%). Od ukupno 1118 izveštaja o prisutnim cijanotoksinima u ispitivanim uzorcima slatkovodnih ekosistema, mikrocistini su bili najdominantniji sa 63% od ukupnog broja registrovanih toksičnih cvetanja, zatim cilindrospermopsin sa 10%, anatoksini sa 9%, saksitoksini 8%, nodularini 2%, a u 9% slučajeva toksičnog cvetanja cijanotoksini nisu specifikovani. Najčešće cvetajuće cijanobakterije su bile iz rodova *Microcystis* (669 izveštaja), *Anabaena* (397 izveštaja), *Aphanizomenon* (100 izveštaja), *Planktothrix* (98 izveštaja) i *Oscillatoria* (75 izveštaja)¹⁷.

Prema podacima sakupljenim do 2018. godine¹⁷, u Africi su registrovani mikrocistini (77%) u 14 zemalja iz 76 slatkovodnih ekosistema. Pored mikrocistina detektovani su anatoksini (9%), nodularini (3%), cilindrospermopsin (2%) i saksitoksini (1%). Cvetajuće vrste su bile iz rodova *Microcystis* (79 slučajeva), *Anabaena* (35), *Oscillatoria* (23), *Cylindrospermopsis* (17) i *Planktothrix* (13).

U Aziji su cijanotoksini nađeni u 15 zemalja iz 131 slatkovodnog vodenog ekosistema. Mikrocistini su bili najdominantniji (79%), zatim cilindrospermopsin (10%), anatoksini (3%), nodularini (3%) i saksitoksini (1%). Cvetajuće vrste su bile iz rodova *Microcystis* (162 slučaja), *Anabaena* (79), *Oscillatoria* (52), *Aphanocapsa* (33) i *Nostoc* (30).

U Australiji i Novom Zelandu su registrovani cijanotoksini u 106 slatkovodnih ekosistema, a najdominantniji su bili mikrocistini (55%), zatim saksitoksini (21%), cilindrospermopsin (8%), anatoksini (5%) i nodularini (4%). Najčešće zastupljene cvetajuće toksične vrste su bile iz rodova *Microcystis* (72 slučaja), *Anabaena* (60), *Phormidium* (13), *Nodularia* (13) i *Cylindrospermopsis* (7).

U Severnoj i Centralnoj Americi cijanotoksini su nađeni u 4 zemlje u 204 slatkovodna vodena ekosistema, među kojima je bilo 156 jezera. I u ovom delu sveta mikrocistini su bili najdominantniji (57%), zatim anatoksini (15%), cilindrospermopsin (4%) i saksitoksini (3%). Nodularini do 2018. godine nisu nađeni. Najčešće zastupljene cvetajuće toksične vrste su

bile iz rodova *Microcystis* (87 slučajeva), *Anabaena* (69), *Aphanizomenon* (19), *Lyngbia* (9) i *Cylindrospermopsis* (2).

U Južnoj Americi cijanotoksini su bili registrovani u 6 zemalja iz 79 slatkovodnih ekosistema. Dominantni cijanotoksini su bili mikrocistini (63%), zatim saksitoksini (13%), anatoksini (7%) i cilindrospermopsin (3%). Nodularini nisu nađeni. Najčešće zastupljene cvetajuće toksične vrste su bile iz rodova *Microcystis* (66 slučajeva), *Anabaena* (24), *Cylindrospermopsis* (22), *Aphanizomenon* (10) i *Pseudoanabaena* (6)¹⁷.

Prema sakupljenim podacima¹⁷, najveći broj cvetajućih ekosistema je registrovan u Evropi. U 25 zemalja su detektovani cijanotoksini iz 273 slatkovodna vodena ekosistema, od čega je bilo 188 jezera. Najčešće zastupljeni cijanotoksini su bili mikrocistini (58%), cilindrospermopsin (18%), zatim saksitoksini (10%), anatoksini (10%) i nodularini (1%). Najčešće zastupljene cvetajuće toksične vrste su bile iz rodova *Microcystis* (203 slučajeva), *Anabaena* (130), *Planktothrix* (85), *Aphanizomenon* (71) i *Phormidium* (28).

6.6. Iskustva iz Republike Srbije

U Republici Srbiji su u novije vreme objavljeni brojni radovi koji govore da se stanje mnogih vodenih ekosistema sa aspekta pojave cvetanja cijanobakterija prati i ocenjuje^{17,18}. U narednim poglavljima će biti detaljno reči o pomenutim radovima. Formirana je Baza podataka cijanobakterija u Srbiji koja sadrži veliki broj bitnih i korisnih informacija iz preko 70 literaturnih izvora o prostiranju i učestalosti cvetanja cijanobakterija i pojave cijanotoksina u periodu od 130 godina, kao i njihovih efekata na živi svet u vodenim ekosistemima, ali i šire¹⁹. Tokom pomenutog perioda od 130 godina, a najviše u poslednje dve decenije, na teritoriji Republike Srbije sprovedeno je preko 250 objavljenih analiza o prisustvu cijanobakterija i/ili njihovih toksina. Informacije u bazi podataka se odnose na sve tipove vodenih ekosistema, uključujući reke, jezera, bare, kanale, ribnjake, akumulacije za navodnjavanje, akumulacije za snabdevanje vodom za piće i akumulacije sa drugim namenama. Do 2010. godine u vodama Srbije je ukupno konstatovan 21 rod cijanobakterija sa 70 vrsta¹⁸, a u bazi podataka je registrovano da su cvetajuće cijanobakterije zastupljene u okviru 13 rodova, 24 vrste, od kojih je najčešće cvetalo pet vrsta cijanobakterija: *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii*, *Microcystis flos-aquae* i *Planktothrix rubescens*. Areal rasprostranjenja cvetajućih vrsta na teritoriji Republike Srbije se širi. Ovakav način sistematizacije podataka o problemu cvetanja cijanobakterija i pojavi njihovih toksina je pionirski na Balkanskom poluostrvu i kao takav može biti model drugim zemljama u okruženju. Neophodno je nastaviti sa praćenjem i unosom novih informacija o cvetanju cijanobakterija sa svim posledicama ove pojave u cilju bolje procene stanja i predviđanja mogućih problema koje cijanobakterije mogu da prouzrokuju u budućnosti.

6. CVETANJE CIJANOBakterIJA

Na osnovu pregleda 130 godina istraživanja biodiverziteta, pojave i toksičnosti cijanobakterija u vodama Srbije, kao i njihovog uticaja na kvalitet vode i zdravlje ljudi, može se zaključiti da je cvetanje cijanobakterija prisutano u mnogim akumulacijama koje se koriste za snabdevanje vodom za piće, rekreaciju, navodnjavanje poljoprivrednih useva, u ribnjacima, kao i drugim vodenim ekosistemima¹⁹.

Naglo razmnožavanje ćelija i masovno razviće cijanobakterijske biomase, koje se manifestuje kao vidljiva nakupina na površini vode ili kao odsustvo providnosti uz najčešće naglašenu plavo-zelenu boju, predstavlja cvetanje cijanobakterija. Cvetanje vode se definiše kao pojava u vodenim ekosistemima kada je proliferacija jedne ili nekoliko vrsta cijanobakterija masovna, odnosno kada je koncentracija cijanobakterijskih ćelija veća od 10.000 u mililitru vode. Pre pojave cvetanja cijanobakterije nisu vidljive u vodenom ekosistemu. Pri povoljnim uslovima sredine dolazi do povećanja gustine populacije što se odražava na izdvajanje jasno vidljive obojene biomase na površini vode u formi plutajućih nakupina. Cijanobakterijsko cvetanje može da liči na obojenu penu, površinsku skramu, tanki „zamašćeni“ sloj ili bilo koji drugi oblik nakupina biomase na površini vode. Kada je cvetanje veoma izraženo, mogu se formirati solidne grudvaste formacije debljine do nekoliko centimetara. Sveže cvetanje ima miris pokošenog sena i trave, a starije cvetanje se neprijatno oseća na raspadanje organske materije.

Literatura:

1. Falconer I.R. (1999): An overview of problems caused by toxic blue-green algae (*Cyanobacteria*) in drinking and recreational water. *Envir. Toxicol.* 14: 5-12.
2. Graneli E., Turner J.T. (2006): *Ecology of Harmful Algae*. Springer, Ecological Studies 189.
3. Graham J.L., Loftin K., Ziegler A.C., Meyer M.T. (2008): Guidelines for design and sampling for cyanobacterial toxin and taste-and-odor studies in lakes and reservoirs: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report. 2008-5039, 39.
4. Codd G.A., Lindsay J., Young L.F., Morrison L.F., Metcalf J.S. (2005): Harmful cyanobacteria, Chapter 1. U: *Harmful cyanobacteria*. Huisman, J., Matthijs, H.C.P., Visser, P.M. (editori). Springer Netherlands. 1-23.
5. Anderson D., Glibert P.M., Burkholder J.M. (2002): Harmful algal blooms and eutrophication: Nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 25: 704–726.

6. CVETANJE CIJANOBAKTERIJA

6. Chorus I., Bartram J. (1999): Toxic Cyanobacterium in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management. London: E&FN Spon. (Published on behalf of the World Health Organization).
7. Anderson D.M., Hoagland P., Kaoru Y., White A.W. (2000): Estimated annual economic impacts from harmful algal blooms (HABs) in the United States. Technical report. Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, USA.
8. Christoffersen K. (1996): Ecological implication of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. *Phycologia*. 35(6): 42-50.
9. Saker M.L., Metcalf J.S., Codd G.A., Vasconcelos V.M. (2004): Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *A.cygnea*. *Toxicon*. 43:185-194.
10. Malbrouck C., Kestemont P. (2006): Effects of microcystins on fish. *Environ.Toxicol.Chem.* 25:72-86.
11. Pflugmacher S., Ame M.V., Wiegand C., Steinberg C.E. (2001): Cyanobacterial toxins and endotoxins their origin and their ecophysiological effects in aquatic organisms. *Wasser Boden*. 53: 15-20.
12. Metcalf J.S., Codd G.A. (2004): Cyanobacterial toxins in the water environment. Foundation for Water Research, Marlow, United Kingdom.
13. Hudnell K. (2008): Cyanobacterial Harmful Algal Blooms. Springer - Verlag.
14. Atech Group (2000): Cost of algal blooms. Final report. Land and Water Resources Research and Development Corporation, Canberra, Australia.
15. Carmichael W. (2001): Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and Ecological Risk Assessment* 7: 1393-1407.
16. Pearl H.W., Hiusman J. (2009): Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports* 1(1): 27-37.
17. Svirčev Z., Lalić D., Bojadžija Savić G., Tokodi N., Drobac Backović D., Chen L., Meriluoto J., Codd G.A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of Toxicology*:1-53.
18. Svirčev Z., Tokodi N., Drobac D., Codd G.A. (2014): Cyanobacteria in aquatic ecosystems in Serbia: effects on water quality, human health and biodiversity. *Systematics and Biodiversity*. 12(3):261-270.
19. Tokodi N. (2016): Toksične cijanobakterije sa teritorije republike Srbije. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.

7. TOKSINI CIJANOBAKTERIJA I NAČINI NJIHOVOG DELOVANJA

7.1. Osobine i uloga toksina cijanobakterija

Toksini cijanobakterija ili cijanotoksini su biološki aktivna jedinjenja sintetisana od strane cijanobakterija. Kod najvećeg broja toksičnih vrsta oni se ne sintetišu tokom svih faza rasta, nego tek ulaskom u sekundarni metabolizam koji je uslovljen stresnim faktorima. Opšte je prihvaćeno da su cijanotoksini proizvod sekundarnog metabolizma cijanobakterija¹. Ne proizvode sve cijanobakterije toksična jedinjenja. Postoji značajna razlika između netoksičnih, potencijalno toksičnih i toksičnih cijanobakterija. S obzirom da je produkcija toksina kod cijanobakterija strogo specifično svojstvo soja koje je genetički određeno, svi sojevi koji poseduju gene za kodiranje sinteze određenih toksina smatraju se potencijalno toksičnim².

Toksini cijanobakterija su biohemijski i funkcionalno raznovrsna grupa jedinjenja, koji su po hemijskom sastavu najčešće peptidi, alkaloidi i lipopolisaharidi. Cijanotoksini mogu biti intracelularni, zatvoreni unutar ćelije ili oslobođeni u spoljašnju sredinu, kada postaju ekstracelularni toksini. Njihovo oslobađanje u spoljašnju sredinu se može desiti za vreme metaboličke aktivnosti ćelija, ali se češće dešava nakon uginuća cijanobakterija i oštećenja ćelijskog zida kada se oslobađaju zajedno sa ćelijskim sadržajem. Vrste koje pripadaju istom rodu mogu proizvoditi različite cijanotoksine, kao i sojevi koji pripadaju jednoj istoj vrsti. Različiti rodovi, vrste i sojevi mogu sintetisati iste cijanotoksine, a ima i cijanotoksina koji su specifični za pojedine taksone³.

Diverzitet cijanotoksina je širokog raspona i globalna distribucija toksičnih cijanobakterija svedoči o njihovom ekološkom i evolutivnom uspehu. Ekofiziologija i otkrivanje prave funkcije cijanotoksina za sada ostaju nepoznati, uprkos velikom broju istraživanja posvećenih cijanobakterijama. Produkcija cijanotoksina je pod uticajem mnogobrojnih ekoloških faktora sredine, od kojih posebnu važnost imaju dostupnost nutrijenata, temperatura, pH, uslovi osvetljenosti i drugi, uglavnom stresogeni faktori. Moguće evolutivne prednosti proizvodnje toksina mogu se svrstati u dve grupe: kompetitivna prednost i fiziološka pomoć. Jedna od hipoteza koja bi mogla da objasni ekološku funkciju cijanotoksina govori o mogućnosti njihovog nastanka iz ćelijske potrebe za odbrambenim mehanizmom, kao odgovor na pritisak sredine i/ili konkurencije za resurse. Takođe, jedna od mogućih ekoloških funkcija cijanotoksina je i odbrambeni mehanizam protiv predatora, gde vrste koje imaju sposobnost proizvodnje cijanotoksina bivaju favorizovane i imaju veću šansu za opstanak u odnosu na one vrste koje nisu toksične. Još jedna funkcija koju bi cijanotoksini mogli da imaju je fiziološka asistencija⁴. Sve navedene funkcije cijanotoksina

i efekti njihovog delovanja su posledice njihove produkcije, a sam uzrok sinteze još uvek nije jasan i poznat.

U sagledavanju potencijalne ekološke uloge cijanotoksina, važno je imati na umu da su cijanobakterije, kao jedna od najstarijih grupa organizama na Zemlji, uspele da opstanu uprkos svim promenama koje su se desile tokom vremena. Pored toga, sinteza cijanotoksina je kontrolisana različitim genetskim i/ili enzimskim faktorima koji uslovljavaju varijabilnost biosintetskih puteva cijanotoksina kod različitih vrsta. Samim tim, vrsta i količina cijanotoksina mogu biti promenljivi, kao odgovor na abiotičke i biotičke faktore sredine. Sve ovo ukazuje na moguću divergentnost i multifunkcionalnost ekološke uloge toksina koja se razvijala vremenom⁴.

7.2. Podele cijanotoksina i mehanizmi njihovog delovanja

Cijanotoksini predstavljaju raznovrsnu grupu prirodnih toksina koji se na osnovu hemijske strukture mogu podeliti na tri grupe⁵:

- ciklični peptidi (mikrocistini i nodularini);
- alkaloidi (anatoksini, saksitoksini, cilindrospermopsin, aplaziatoksin i lingbiatoksin);
- lipopolisaharidi (lipopolisaharidni endotoksini).

U Tabeli 5 su predstavljeni cijanotoksini u odnosu na hemijsku strukturu, njihovo dejstvo na targetni organ kod sisara, kao i najdominantniji rodovi koji ih proizvode:

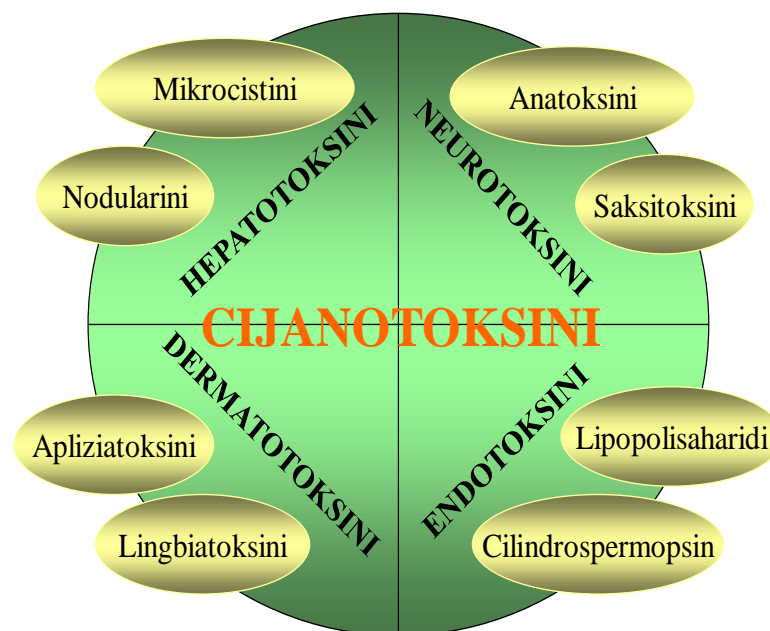
Tabela 5. Lista toksičnih cijanobakterija, njihovih toksina i delovanje na sisare (modifikovani vodič Svetske zdravstvene organizacije⁶)

Grupa toksina		Target	Cijanobakterijski rodovi
Ciklični peptidi	mikrocistini	jetra	<i>Microcystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Synechococcus, Synechocystis, Aphanocapsa</i>
	nodularini	jetra	<i>Nodularia</i>
Alkaloidi	cilindrospermopsin	jetra i ostali organi	<i>Cylindrospermopsis, Anabaena, Aphanizomenon, Umezakia, Raphidiopsis</i>
	Saksitoksini	periferni nervni sistem	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
	anatoksin-a	periferni nervni sistem	<i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon, Raphidiopsis</i>

7. TOKSINI CIJANOBAKTERIJA I NAČINI NJIHOVOG DELOVANJA

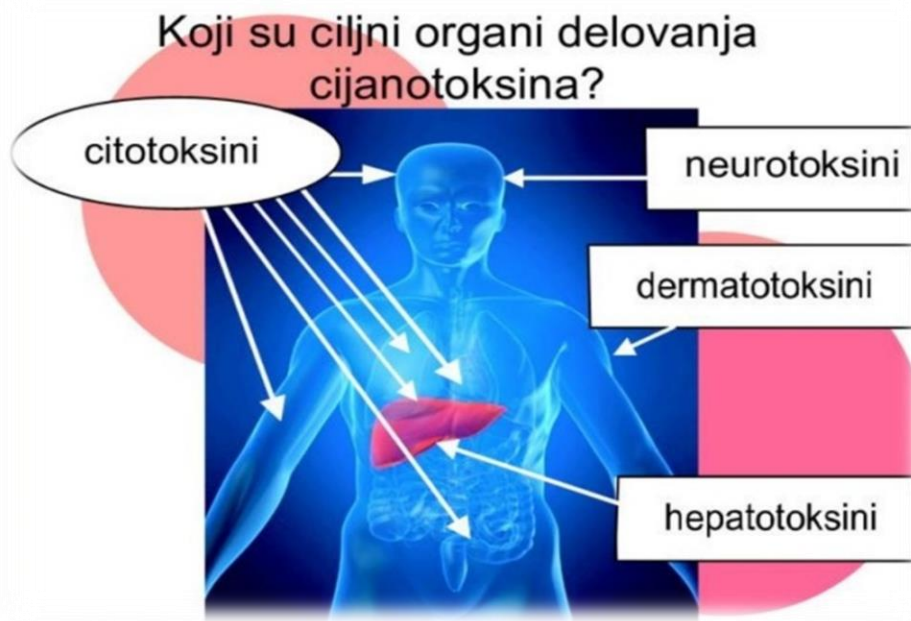
	anatoksin-a(S)	nervni sistem	<i>Anabaena</i>
	aplaziotoksin	koža	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
	lingbiatoksin-a	koža, creva	<i>Lyngbya, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
Aminokiselina - alkaloidni prekursori	BMAA (β -metilamino-L-alanin)	motorni neuroni	<i>Cylindrospermopsis, Anabaena, Aphanizomemon, Planktothrix (Oscillatoria), Microcystis, Nodularia, Synechococcus, Synechocystis</i>
Lipopolisaharidi	Endotoksini	potentni iritanti kože	svi rodovi

Mehanizmi cijanobakterijske toksičnosti su takođe veoma različiti, tako da se cijanotoksini mogu kategorisati prema targetnom sistemu, odnosno organu ili ćelijama na koje deluju. Na osnovu toga cijanobakterijski toksini se mogu podeliti u nekoliko uslovnih kategorija (jer neki cijanotoksini mogu imati više različitih dejstava i utiču na više organa)⁵ (Slika 38).



Slika 38. Vrste cijanotoksina prema targetnom primarnom organu

Iako svi toksini mogu reagovati na nivou strukture, funkcije ili rasta bilo koje ćelije, terminološki se podela na hepatotoksine, neurotoksine, dermatotoksine i citotoksine primarno odnosi na jetru, nervni sistem, kožu i generalno ćelije svih tkiva i organa (Slika 39):



Slika 39. Targetni organi pod uticajem cijanotoksina

7.2.1. Hepatotoksini

Hepatotoksini su po hemijskom sastavu ciklični peptidi, koji ispoljavaju svoj toksični efekat inhibišući enzime protein fosfataze. Najčešće su prisutni u toku cvetanja cijanobakterija, a svojim delovanjem mogu da izazivaju hemoragije, poremećaje jetre i stimulišu rast ćelija tumora. Trovanje hepatotoksinima se prepoznaje po opštoj slabosti, bledilu, otežanom disanju, abdominalnim bolovima, nadutosti, povraćanju, pojavi dijareje, kao i ubrzanom ili slabom pulsu^{3,5,6,7}. Najznačajniji i najpoznatiji hepatotoksini su mikrocistini i nodularin. Iako primarno oštećuju jetru, mogu da utiču i na druge organe.

Mikrocistini

Mikrocistini su ciklični heptapeptidi sa molekularnom masom između 500 i 4.000 D. Među mikrocistinskim varijantama najčešće je toksičan mikrocistin LR (MC-LR) u kojem su promenljive dve aminokiseline, leucin i arginin. Prusustvo Adda grupe je jedinstveno i specifično u strukturi mikrocistina. Adda igra važnu ulogu u biološkoj aktivnosti mikrocistina. Sa farmakotoksičnog aspekta MC-LR je rastvorljiv u vodi i ekstremno stabilan na visokim temperaturama. Molekuli su stabilni oko sedam dana u rezervoarima vode, ali su značajno duže stabilni u filtriranoj i dejonizovanoj vodi. Za svaku izoformu mikrocistina determinisan je različit nivo toksičnosti. Na primer, LD₅₀ za MC-LR je 50 µg/kg miša, a letalna doza za MC-RR 600 µg/kg. Toksičnost mikrocistina kod miša u odnosu na druge cijanotoksine i neke pesticide je pokazana u Tabeli 6⁷.

Tabela 6 Toksičnost cijanotoksina kod miševa u poređenju sa aktuelnim pesticidima⁷

Toksičnost kod miševa LD ₅₀	
Cijanotoksini	Pesticidi
Anatoksin-a: 0,2 µg/kg	DDT: 113 µg/kg
Anatoksin-a (s): 0,02 µg/kg	Atrazin: 264 µg/kg
Saksitoksin: 0,008 µg/kg	Karabril: 3.000 µg/kg
Nodularin: 0,05–0,3 µg/kg	Paration: 2–20 µg/kg
Mikrocistin: 0,05–0,3 µg/kg	Parakson: 2 µg/kg
Cilindropermopsin: 2 µg/kg	

Mikrocistini su dobili naziv prema predstavniku cijanobakterijskog roda iz kojeg su prvi put izolovani, a to je *Microcystis*. Mikrocistini su najviše proučavani kao najzastupljeniji toksini u površinskim vodama. Oni predstavljaju najveću i strukturno veoma raznovrsnu grupu cijanobakterijskih toksina, a varijacije u strukturi odgovorne su za razlike u toksičnosti ovih jedinjenja. Najčešći, ujedno i najviše proučavani, su MC-LR, MC-LA, MC-RR, MC-YA i MC-YR. Među njima, MC-LR je najčešća i najtoksičnija strukturna varijanta⁸. Prema nedavno objavljenim podacima, postoji oko 250 različitih varijanti mikrocistina⁹. Ovi cijanotoksini zbog svoje hemijske strukture su izuzetno stabilni u vodi, mogu tolerisati radikalne promene u spoljašnjoj sredini, otporni su na ekstremne pH vrednosti kao i temperature, opstaju posle ključanja vode, što ukazuje da kuvanje nije dovoljno da bi se eliminisali ovi perzistentni cijanotoksini⁶.

Mikrocistini mogu ispoljiti akutne toksične efekte na životinje i ljude. Ovi cijanotoksini mogu dovesti do uginuća životinja, najčešće pasa i stoke, a ribe i ptice su takođe ugrožene. Pored akutnih ovi toksini mogu imati i hronične efekte. Sve više istraživanja pokazuje da mikrocistini mogu predstavljati promotere tumora i potencijalne kancerogene^{10,11}. Bez obzira na vrstu, mehanizam delovanja mikrocistina je isti, a to je inhibicija protein fosfataza 1 (PP1) i 2A (PP2A) u *in vitro* i *in vivo* uslovima. Većina oralno unetih mikrocistina, koji se apsorbuju iz gastrointestinalnog trakta, se prenose portalnim krvotokom u jetru. Mikrocistini ulaze u hepatocyte pomoću specifičnih nosača-superfamilije organskih anjonskih transportnih polipeptida. Neke varijante mikrocistina su hidrofobnije od MC-LR i mogu znatno lakše prolaziti kroz ćelijsku membranu uz pomoć drugih mehanizama, uključujući difuziju.

MC-LR delovanjem na PP1 i PP2A može izazvati razne ćelijske poremećaje uz oštećenje citoskeleta, i to pre svega mikrotubula hepatocita, što vodi njihovoj morfološkoj transformaciji. Visoke doze MC-LR mogu dovesti do ruptur mitohondrijalne membrane i oštećenja hepatične arhitekture sa posledičnim masivnim krvarenjem u jetri. Morfološke i funkcionalne promene i oštećenja hepatocita se mogu dešavati kroz procese autofagije, nekroze, apoptoze ili ćelijske proliferacije. Efekti mikrocistina na ćelije jetre zavise od trajanja izloženosti kao i koncentracije cijanotoksina¹². Tokom hronične ekspozicije niskim koncentracijama, MC-LR aktivira i favorizuje ćelijsku proliferaciju dovodeći do tumorske promocije. Veoma visoke koncentracije MC-LR izazivaju nekrozu ćelija jetre, a visoke subletalne doze mogu izazvati apoptozu¹².

Mikrocistini su poznati kao snažni tumorski promoteri, a još uvek postoje samo indicije da mogu delovati i kao inicijatori tumora. Sposobnost MC-LR da dovede do tumorske inicijacije se zasniva na oštećenjima DNK koja su izazvana direktnom interakcijom toksina sa DNK ili indirektnim mehanizmima nastajanja i delovanja slobodnih radikala. Nakon ekspozicije, MC-LR u zavisnosti od koncentracije dovodi do mutacija na značajnim genima odgovornim za ćelijski ciklus, popravku DNK i apoptozu. Budući da pripada 2B tipu karcinogena, MC-LR može uzrokovati malignu transformaciju i proliferaciju hepatocita, nakon uzastopnih ponavljajućih mutacija. Dugogodišnja ispitivanja na ćelijskim linijama i *in vivo* modelima ukazuju na višestepenu hepatokarcinogenezu indukovanu mikrocistinima¹³. S tim u vezi se postavlja pitanje oko neophodnosti postojanja kofaktora u nastanku i razvoju primarnog kancera jetre, jer većina autora smatra da je neophodno prisustvo i drugih rizičnih faktora. Međutim, mišljenja da je MC-LR nezavistan tumorski inicijator polaze od činjenice da mnoga istraživanja ne uzimaju u obzir cikličnu prirodu ljudske izloženosti mikrocistinima. U slučaju ekspozicije ljudi putem kontaminirane vode za piće, dolazi do sezonskih variranja u trajanju izloženosti i koncentraciji toksina. U tom smislu, ljudi su hronično izloženi najrazličitijim kombinacijama niskih i visokih doza mikrocistina. Takva hronična ekspozicija vodi ne samo u tumorsku promociju nego prvenstveno u oštećenja jetre koja su preduslov za nastanak primarnog kancera jetre.

Uočeno je da se MC-LR-Cis efikasno izlučuje putem bubrega, dok se MC-RR uglavnom izlučuje preko creva, a MC-LR-GSH se izlučuje i putem creva i bubrega¹⁴.

Nodularin

Moćan hepatotoksin koji proizvode cijanobakterije je nodularin. Ovaj ciklični pentapeptid je slične hemijske strukture i načina delovanja kao mikrocistini. Toksični efekti nodularina se prvenstveno odnose na hepatocite, zbog aktivnog transporta nodularina u jetru pomoću multi-specifičnih organskih anjon transportera žučne kiseline. Toksičnost nodularina se svodi na inhibiciju eukariotske PP1 i PP2A i pri tome više utiče na PP2A nego PP1. Inhibicija PP2A se odvija pri relativno sličnim koncentracijama kao i u slučaju

mikrocistina (~0,1 nM). Nodularin dovodi do hemoragije jetre i ima letalan efekat kod miša pri intraperitonealnom (ip) injektiranju doze od 50 µg/kg (LD₅₀). Pri dozama manjim od te koncentracije nodularin može delovati kao kancerogen i to putem inicijacije i promocije tumora jetre⁵.

Istraživanja su pokazala da nodularin ima sposobnost bioakumulacije u različitim organizmima, uključujući ribe, škampe, zooplankton i bentosne organizme i pri tome može da izazove oksidativni stres u tkivima¹⁵. Prema tome, ovaj hepatotoksin može imati negativan uticaj na zdravlje ljudi i životinja.

Sposobnost produkcije nodularina imaju predstavnici cijanobakterijskog roda *Nodularia* prvenstveno vrsta *Nodularia spumigena*, po kojoj je i dobio naziv.

7.2.2. Neurotoksini

Neurotoksine proizvode velik broj cijanobakterija. Ovi cijanotoksini utiču na centralni nervni sistem blokadom neuromuskularnih veza, što može da dovode do respiratornog i kardiovaskularnog šoka. Letalni efekat se može ispoljiti već nekoliko minuta ili sati nakon unošenja neurotoksina u organizam, te se zato nazivaju još i brzo delujući toksini. Najčešći neurotoksini su saksitoksini i anatoksini, koji spadaju u grupu najjačih poznatih neurotoksina⁵.

Saksitoksini

Saksitoksini dovode do blokade natrijumovih, kalijumovih i kalcijumovih kanala nervnih ćelija i mišićnog tkiva zbog čega se zaustavlja propagacija nervnog impulsa¹⁶. Saksitoksini se apsorbuju u gastrointestinalnom traktu i mogu da difunduju preko krvno-moždane barijere i da se eksretuju putem urina⁵.

Saksitoksini spadaju u najpotentnije prirodne toksine, što se može videti u poređenju sa najjačim bakterijskim, biljnim i sintetskim toksinima (Tabela 7). Saksitoksini su toksični nakon inhalacije ili ingestije. Nakon inhalacije dolazi do brzog respiratornog kolapsa i smrti. Najviše informacija o dejstvu saksitoksina dobijeno je nakon ingestije školjki. Saksitoksini se mogu akumulirati u vodenim organizmima koji se konzumiraju, kao što su morski plodovi, posebno školjke. Ingestija kontaminiranih organizama ovim toksinima kod čoveka može dovesti do bolesti poznate kao paralitičko trovanje školjkama (eng. "*paralytic shellfish poisoning*" PSP). Simptomi ovog trovanja počinju da se pojavljuju već nakon 30 minuta od ingestije i to u vidu peckanja usana, jezika i grla, utrnulosti lica i vrata, znojenja, povraćanja, dijareje, slabosti mišića, gubitka motorne koordinacije i paralize.

Tabela 7. Komparacija toksičnosti bioloških aktivnih materija različitog porekla⁵

7. TOKSINI CIJANOBakterija I NAČINI NJIHOVOG DELOVANJA

Uzročnik	Toksičnost (1/LD ₅₀)	Poreklo
Botulinum toksin	1.000	bakterijski
Tetanus toksin	500	bakterijski
Ricin	0,330	biljni
Saksitoksin	0,100	dinoflagelatski i cijanobakterijski
Anatoksin-a(S)	0,20	cijanobakterijski
Mikrocistin	0,20	cijanobakterijski
Soman	0,016	sintetički
Sarin	0,010	sintetički

Napomena: LD₅₀-letalna doza ubija 50% test organizama, izražena u µg/kg telesne težine

Zbog paralize respiratornih mišića i kardiovaskularnog kolapsa može doći i do smrti, što se događalo kod ljudi nakon unošenja 1 mg saksitoksina¹⁶. Ovi neurotoksini uzrokuju 2.000 PSP slučajeva godišnje, sa stopom od 15 % smrtnosti kod ljudi. Uklanjanje neapsorbovanog toksina se vrši uz pomoć aktivnog uglja, dok trenutno ne postoji klinički odobren protivotrov u terapiji trovanja saksitoksinom. Poluživot saksitoksina u telu je u proseku 90 min i šanse za preživljavanje se povećavaju nakon 12 h od inicijalne konzumacije toksina. Izloženi saksitoksinu neophodna brza medicinska pomoć.

U slatkovodnim ekosistemima producenti saksitoksina mogu biti vrste: *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon sp.*, *Aphanizomenon gracile*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Lyngbya wollei* i *Planktothrix sp.*⁵.

Anatoksini

Anatoksini obuhvataju anatoksin-a, homoanatoksin-a i anatoksin-a(S)⁵. Anatoksin-a je po hemijskoj strukturi biciklični amin, potentan alkaloid, niske molekulske težine. Ovaj cijanotoksin deluje zaustavljanjem postsinaptičke depolarizacije i prekidom neurotransmisije, što se manifestuje sledećim kliničkim znacima: mišićnim fascikulacijama, konvulzijama, kolapsom, paralizom, gušenjem, cijanozom i smrću. Iako je prijavljen ograničen broj slučajeva trovanja ovim toksinom, čini se da je lečenje trovanja anatoksinom-a od male ili nikakve koristi, a ishod je obično smrtonosan¹⁷. Izveštaji o trovanju anatoksinom-a su ređi od trovanja hepatotoksinima, međutim, ova trovanja se

ipak dešavaju širom sveta. Anatoksin-a mogu da produkuju cijanobakterije iz rodova: *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* i *Cylindrospermum*⁵.

Homoanatoksin-a je strukturni homolog anatoksina-a, koji takođe imitira efekat neurotransmitera acetilholina (Ach) i tako deluje na neuromuskulatornu vezu i dovodi do konstantne stimulacije mišićnih ćelija, izazivajući vrtoglavicu, teturanje, otežano disanje, paralizu grudnih mišića, konvulzije i smrt¹⁷.

Anatoksin-a(S) se razlikuje u strukturnom pogledu i toksičnosti od anatoksina-a. Anatoksin-a(S) je fosfatni ester cikličnog N-hidroksiguanina i deluje slično kao i sintetički organofosfatni insekticidi. Mehanizam delovanja anatoksin-a(S) je ireverzibilna inhibicija enzima acetilholin esteraze, čime se sprečava reakcija enzima sa Ach. Kao posledica toga Ach se vezuje za membranske receptore i rezultuje stalnom stimulacijom mišića. Ovo se manifestuje nekontrolisanim trzanjem mišića i konvulzijama, a ako zahvati i respiratorne mišiće, usled prestanka disanja može doći do smrtnog ishoda. Karakterističan simptom trovanja ovim toksinom je salivacija i otuda slovo S u nazivu ovog toksina.

Neurotoksične aminokiseline: β-metilamino-L-alanin (BMAA)

Smatra se da neurotoksičnu neproteinsku aminokiselinu β-metilamino-L-alanin (BMAA) mogu da proizvode gotovo sve cijanobakterije. BMAA je prvi put detektovana u plodu cikasa tokom istraživanja veoma visoke stope amiotrofične lateralne skleroze i kompleksa Parkinsonove bolesti kod lokalnog Kamoro naroda u Guamu. BMAA je produkovana od strane simbiotske cijanobakterije roda *Nostoc* koja se nalazi u korenju cikasa i akumulira se u životinjama koje se hrane ovom biljkom, poput voćnih slepih miševa koje Kamoro narod koristi u ishrani za vreme tradicionalnih praznika¹⁸.

BMAA je široko rasprostranjena u brojnim morskim plodovima poput ribe, rakova, jastoga, ostriga i školjki, međutim, ne postoje prijavljeni akutni slučajevi usled izlaganja BMAA. Neurotoksičnost BMAA zahteva dugoročno izlaganje visokim nivoima BMAA u hrani i vodi što dovodi do pojave hroničnih bolesti. Predloženi mehanizam kojim BMAA ispoljava toksičnost, demonstriran tokom istraživanja na životinjskim i ljudskim ćelijskim linijama, je ekcitoloksičnost putem N-metil-D-aspartat receptora i produkcija reaktivnih vrsta kiseonika što dovodi do stresa mitohondrija i oštećenja DNK koje usled nedostatka mehanizama popravke vremenom mogu dovesti do pojave amiotrofične lateralne skleroze i kompleksa Parkinsonove bolesti. BMAA se pojavljuje u slobodnom obliku ili se vezuje za proteine. U vezanom obliku predstavlja endogeni neurotoksični rezervoar, koji prilikom metaboličke razgradnje proteina postepeno otpušta BMAA direktno u moždana tkiva. Kada se nađe u slobodnom obliku, BMAA izaziva neurološka oštećenja. Proces intoksikacije na ovaj način može trajati godinama pa čak i decenijama. Pretpostavlja se da se oštećivanje neurona vrši usled preterane stimulacije glutamatnih receptora koji su smešteni na nervnim

ćelijama i koji su važni za neuronsku komunikaciju, formiranje memorije, učenje i termoregulaciju⁵.

7.2.3. Dermatotoksini

Dermatotoksini su alkaloidi koji se dele na aplaziatoksine, lingbiatoksine i debromoaplaziatoksine. Dermatotoksini mogu da izazovu različite alergijske reakcije i iritacije na koži i na drugim organima. Najčešće izazivaju teške oblike dermatitisa poznate kao "plivački svrab", zatim oralne i gastrointestinalne promene, zbog čega predstavljaju posebnu opasnost u vodama za rekreaciju. Simptomi koji se ispoljavaju u kontaktu sa dermatotoksinima su iritacije kože, očiju i respiratornih organa⁵. Klinička slika se može pojaviti nakon samo jednog izlaganja ovim toksinima. Inicijalni simptomi u vidu upalnog procesa kože i pulsirajućih senzacija koji se obično pojavljuju nekoliko sati nakon izlaganja, praćeni su formiranjem plikova i dubokog ljuštenja kože koji traju do nekoliko dana. Pojedine vrste roda *Lyngbya* su poznate po produkciji aplaziatoksina i debromoaplaziatoksina, jedinjenja koja su inicijatori tumora i aktivatori enzima protein kinaze C.

7.2.4. Citotoksini

Cilindrospermopsin

Cilindrospermopsin je toksin koji ispoljava negativne efekte na ćelije različitih tkiva zbog čega je i svrstan u grupu citotoksina⁵. U pitanju je izuzetno biološki aktivan alkaloid koji ometa nekoliko metaboličkih puteva. Toksičnost cilindrospermopsina se ispoljava kroz inhibiciju glutationa, sinteze proteina i citohroma P45. On oštećuje jetru, bubrege, slezinu, srce, creva, timus, kožu i mukozne membrane izazivajući alergijske reakcije (osip, astmu, iritacije nosa, očiju i grla), dovodi do grčeva u stomaku, groznice, glavobolje⁵. Cilindrospermopsin se prema delovanju može smatrati citotoksinom ali i hepatotoksinom i neurotoksinom, a osim toga smatra se i potencijalnim karcinogenom. Takođe, cilindrospermopsin može prouzrokovati toksičnost *in utero*, pošto je povezan sa preuranjenim rađanjem, smanjenom veličinom i povećanim mortalitetom mladunaca miša. Istraživanja su dovela do pretpostavke da cilindrospermopsin ima potencijalne endokrine efekte, odnosno da utiče na odnos progesteron/estrogen kod žena.

Cilindrospermopsin je 1992. izolovan iz cijanobakterijske vrste *Cylindrospermopsis raciborskii*, koja se najčešće javlja u tropskim krajevima u slatkovodnim jezerima, rekama i akumulacijama. Međutim, reč je o invazivnoj vrsti koja širi svoje rasprostanjenje i samim tim se povećava opasnost od pojave ovog potentnog toksina koji pretili da zauzme kosmopolitsku distribuciju. Ova cijanobakterijska vrsta širi svoj areal rasprostranjenja i u Srbiji. Invazivnost se može pripisati izuzetnoj otpornosti ove cijanobakterije na nepovoljne ekološke uslove i formiranju veoma rezistentnih akineta.

Endotoksini (Lipopolisaharidni toksini)

Lipopolisaharidi ili endotoksini su integralni delovi spoljašnje membrane Gram- bakterija, uključujući i cijanobakterije, gde formiraju komplekse sa proteinima i fosfolipidima. Cijanobakterijski lipopolisaharidi, kao i bakterijski lipopolisaharidi imaju toksično i pirogeno dejstvo, te mogu da dovedu do inflamacija i gastroenteritisa, ali su od njih manje potentni. Smatra se da ovi toksini mogu da izazovu iritaciju kože i očiju, sluzokože, alergijske reakcije, vrtoglavicu, glavobolju, groznicu, grčeve, gastroenteritis, povraćanje, dijareju i respiratorne probleme¹⁹. Poznato je da lipopolisaharidi heterotrofnih Gram-bakterija mogu da dovedu do morbiditeta i mortaliteta, zbog čega i cijanobakterije mogu biti odgovorne za slične posledice jer sadrže lipopolisaharide¹⁹. Iz vrste *Anacystis nidulans* sedamdesetih godina prošlog veka izolovan je prvi lipopolisaharidni endotoksin. Toksični lipopolisaharidi su izolovani iz vrsta *Anabaena cylindrica*, *Oscillatoria brevis*, *Microcystis aeruginosa*, pa čak i *Spirulina platensis*, što je interesantno sa medicinskog i higijenskog aspekta budući da se ova cijanobakterija obično smatra netoksičnom i koristi za proizvodnju suplemenata u ishrani.

Cijanotoksini se mogu svrstati u 4 grupe:

1. Hepatotoksini su heptapeptidi, od kojih su poznati mikrocistini i nodularin. Prvenstveno oštećuju jetru, ali i druge organe. Nosači žučnih kiselina ih prenose u ćelije jetre, ali se zadržavaju i u crevima, dospevajući do drugih organa gde ireverzibilno blokiraju protein fosfatazu 1 i 2A. Mogu izazvati gastroenteritis, mučninu, povraćanje, dijareju, grčeve u stomaku, slabost mišića, probleme sa vidom. Izlaganje mikrocistinima rezultuje morfološkim i funkcionalnim promenama hepatocita, što vodi nekrozi i apoptozi ili ćelijskoj proliferaciji, a koji će se od ova dva puta realizovati zavisi od doze i trajanja izlaganja toksinima.

2. Neurotoksini su alkaloidi koji uključuju anatoksin-a (nikotinski agonist), saksitoksin (blokira natrijumove kanale u neuronima) i organofosfate (blokiraju acetilholinesterazu). Utiču na centralni nervni sistem blokadom neuromuskularnih veza, što dovodi do respiratornog i kardiološkog šoka.

3. Dermatotoksini su alkaloidi od kojih su najčešći apliziatoksini i lingbiatoksini. Izazivaju česte dermatitise poznate pod nazivom „svrab plivača“, oralne i gastrointestinalne inflamacije. Ovi toksini su tumorski promotori i aktivatori protein kinaze C.

4. Citotoksini ili endotoksini su alkaloidi, kao što je cilindrospermopsin, koji inhibišu sintezu proteina, oštećuju jetru, bubrege, kožu i mukozne membrane, izazivajući alergijske reakcije (osip, iritacija nosa, očiju i grla, astma). Mogu dovesti do grčeva u stomaku, groznice i glavobolje. U grupu citotoksina se mogu svrstati i iritirajući lipopolisaharidi koji izazivaju alergijske reakcije u bilo kom tkivu sisara.

Literatura:

1. Carmichael W.W. (1992): Cyanobacteria secondary metabolites - the cyanotoxins. *J. App. Bacteriol.* 72(6):445-459.
2. Kurmayer R., Christiansen G. (2009): The genetic basis of toxin production in cyanobacteria. *Freshw. Rev.* 2: 31-50.
3. Codd G.A., Bell S., Kaya K., Ward C., Beattie K.A., Metcalf J.S. (1999): Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *Eur. J. Phycol.* 34:405-415.
4. Holli A., Kinnear S. (2013): Interpreting the Possible Ecological Role(s) of Cyanotoxins: Compounds for Competitive Advantage and/or Physiological Aide?. *Marine Drugs.* 11(7):2239-2258.
5. Sedmak B., Svirčev Z. (2011): Cijanobakterije i njihovi toksini – ekološki i toksikološki rizici i cvetanje cijanobakterija u Srbiji. *Visoka škola za varstvo okolja, Velenje, Slovenija.*
6. Svetska Zdravstvena Organizacija, SZO (1999): Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Routledge, London and New York.
7. Chorus I., Bartram J. (1999): Toxic Cyanobacterium in Water: A Guide to their Public Health Consequences, monitoring and Management. London: E&FN Spon.(Published on behalf of the WHO).
8. Fitzgerald J.D. (2001): Cyanotoxins and human health-overview. U: Chorus, I. (editor) *Cyanotoxins - occurrence, causes, consequences*, Berlin, Springer-Verlag. 179-190.
9. Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A. (2016): *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Chichester: Wiley, pp. 298-308.
10. Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Lužanin Z., Munjas AM., Nikolin B., Meriluoto J. (2014): Epidemiology of cancers in Serbia and possible connection with cyanobacterial blooms. *J Environ Sci Heal C*, 32(4): 319-337.
11. Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Mijović B., Codd G.A., Meriluoto J. (2017): Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins. *Archives of Toxicology* 91(2):621–650.
12. Svirčev Z., Baltić V., Gantar M., Juković M., Stojanović D., Baltić M. (2010): Molecular aspects of microcystin induced hepatotoxicity and hepatocarcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 28(1): 39 – 59.
13. Hu Z, Chen H, Pang Ch, Lin Q.(2008): The expression of p53 and p16 in the course of microcystin – LR inducing of liver tumor. *Chinese-German J Clin Oncol.*, 7:690-3.
14. Ito E., Takai A., Kondo F., Masui H., Imanishi S., Harada K. (2002): Comparison of protein phosphatase inhibitory activity and apparent toxicity of microcystins and related compounds. *Toxicon.* 40(7):1017-1025.

15. Mazur-Marzec H., Tyminska A., Szafranek J., Plinski M. (2007): Accumulation of nodularin in sediments, mussels, and fish from the Gulf of Gdansk, Baltic Sea. *Environ Toxicol.* 22:101-111.
16. Llewellyn L.E. (2006): Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Nat Prod Rep.* 23:200-222.
17. Puschner B., Hoff B., Tor E.R. (2008): Diagnosis of anatoxin-a poisoning in dogs from North America. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20(1):89-92.
18. Cox P.A., Banack S.A., Murch S.J. (2003): Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(23): 13380-13383.
19. Stewart I., Schluter P.J., Shaw G.R. (2006): Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health - a review. *Environ. Health.* 24(5):7.

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

Postoji veliki broj slučajeva intoksikacije ljudi usled izlaganja cijanobakterijama i/ili cijanotoksinima. Najstariji podatak o pojavi cvetanja voda potiče još iz perioda dinastije Han u Kini pre 1.000 godina, kada je general Zhu Ge-Ling zabeležio da je određeni broj vojnika bio otrovan koristeći za piće rečnu vodu izrazito tamno zelene boje. U tom slučaju se verovatno radilo o pojavi prenamnožavanja cijanobakterija i algi, odnosno o cvetanju vode i prisustvu cijanotoksina¹. U Sjedinjenim Američkim Državama se 1931. godine desilo masovno trovanje 5.000-8.000 ljudi koji su se snabdevali vodom za piće iz reka Ohio i Potomak u kojima je došlo do masovnog razvoja vrsta roda *Microcystis*. U tom slučaju primenjeni tretmani u pripremi vode za piće (precipitacija, filtracija i hlorinacija) nisu uklonili toksine iz vode. U Kanadi je 1959. godine obolelo 13 osoba usled plivanja u jezeru u kojem je došlo do prenamnožavanja vrsta *Microcystis spp.* i *Anabaena circinalis*. Pored ovih istorijskih dokumentovanih intoksikacija postoje stotine opisa različitih intoksikacija nakon kontakta ljudi sa cijanobakterijama i njihovim toksinima i svi ti slučajevi su sakupljeni u revijalnom radu Svirčev i sar. (2019)¹.

Povećani nivoi rizika za ljudsko zdravlje mogu biti izazvani unošenjem značajnih količina cijanotoksina tokom akutne izloženosti, ili u kontaktu sa malim dozama tokom dužeg vremenskog perioda - u hroničnoj ekspoziciji.

Glavni putevi izloženosti čoveka cijanotoksinima su:

1. unošenje kontaminirane vode za piće;
2. kontakt sa toksinima tokom rekreativnih aktivnosti kao što su plivanje, vožnja kanuom ili kupanje, uz udisanje kapljica ili kontakt putem nosne sluzokože i kože;
3. ishrana vodenim organizmima (ribe, školjake, rakovi) iz zagađenih voda, koji su akumulirali cijanotoksine u svojim tkivima;
4. ishrana kontaminiranim povrćem i voćem navodnjavanog vodom koja sadrži cijanotoksine;
5. konzumiranje dijetetskih suplemenata na bazi cijanobakterija, ako nivoi cijanotoksina nisu kontrolisani;
6. specifičan način izlaganja - intravenozno tokom hemodijalize.

8.1. Unošenje cijanotoksina putem kontaminirane vode za piće

Direktno unošenje kontaminirane vode za piće je čest put unosa cijanotoksina. Ukoliko se voda za piće dobija iz površinskih voda podložnih pojavi cvetanja cijanobakterija, onda

postoji velika verovatnoća da se takva voda karakteriše prisustvom cijanotoksina. Visok nivo rizika za ljudsko zdravlje javlja se prvenstveno unosom velike količine cijantoksina prisutnih u vodi za piće tokom akutnog izlaganja, ili unošenjem malih doza toksina tokom dužeg vremenskog perioda što predstavlja vid hroničnog izlaganja ljudi ovim toksinima.

Poznati su brojni slučajevi trovanja ljudi korišćenjem vode za piće kontaminirane cijanotoksinima i to je razlog zbog čega su cijanotoksini uvršteni u listu kritičnih kontaminanata (CCL-2) svetske Agencije za zaštitu životne sredine (*Environmental Protection Agency* - EPA). Osim toga, hronično izlaganje pojedinim grupama cijanotoksina, kao što je slučaj sa mikrocistinima, može dovesti do pojave karcinoma. To je uslovalo da Internacionalna agencija za istraživanje kancera (IARC) toksin mikrocistin-LR klasifikuje u 2B grupu toksičnih supstanci (moguće karcinogeno delovanje na čoveka).

8.1.1. Akutno trovanje kod ljudi

Stanje u svetu

Postoje brojni izveštaji o povezanosti ljudskih bolesti sa cijanobakterijama i cijanotoksinima iz vode za piće u mnogim zemljama sveta na svim kontinentima. Ovi incidenti uključuju nekoliko hiljada slučajeva trovanja, sa gastroenteritisom kao najčešćim ishodom¹. Opisani su prema kontinentima ili zemljama u kojima su registrovani.

Tokom 1931.godine, u Čarlstonu, Zapadna Virdžinija, u populaciji od 60.000 ljudi, njih 9.000 imalo je akutni gastroenteritis nakon kontaminacije vode za piće cijanobakterijama. Slično se dogodilo i upotrebom vode za piće iz reke Ohajo iste godine. U SAD-u su i 1968. godine zabeleženi slučajevi gastrointestinalnih obolenja nakon upotrebe vode za piće iz vodozahvata sa masovnim razvojem cijanobakterija.

Cvetanje cijanobakterija iz rodova *Microcystis* i *Anabaena* u rezervoaru Bahia, Brazil je izazvalo 2.000 slučajeva gastroenteritisa, uključujući i mogućih 88 smrtnih slučajeva, među stanovništvom koje je pilo vodu iz kontaminiranog rezervoara.

Veće akutno trovanje sa mikrocistinima je opisano i u Engleskoj, među vojnicima na jednoj vojnoj vežbi na jezeru u kojem je došlo do cvetanja vrsta iz roda *Microcystis*. Vojnici plivači, koji su za vreme plivanja progutali vodu i/ili inhalirali cijantoksine, dobili su abdominalni bol, mučninu, povraćanje, dijareju, grčeve mišića, suvi kašalj, glavobolju i plikove na usnama i ustima. Kod dva plivača dijagnostikovana je pneumonija.

Izbijanje hepatoenteritisa na Palm Islandu, Kvinslend, Australija 1979. godine, zabeleženo je kod 139 dece i 10 odraslih, što je rezultiralo sa oko 70% pacijenata kojima je bila neophodna intravenska terapija. Sindrom je uključivao povraćanje, glavobolju, bolove u stomaku sa hepatomegalijom, letargiju, dijareju, acidozu i oštećenje jetre, bubrega, pluća i

intestinuma. Navedeni simptomi su bili povezani sa korišćenjem vode za piće iz rezervoara kontaminiranim sa cijanobakterijom *Cilindrospermopsis raciborskii*. Dokazi o oštećenju jetre usled izloženosti mikrocistinima preko vode za piće su pronađeni u rutinskim testovima funkcije jetre izvršenim 1981. godine kod bolničkih pacijenata u Armidejlu, Novi Južni Vels, Australija. Signifikantna statistička korelacija pronađena je između povišenja aktivnosti enzima jetre (GGT) i unošenja vode iz lokalnog rezervoara, koja je bila kontaminirana hepatotoksičnom cijanobakterijom *Microcystis aeruginosa*, u poređenju sa drugim izvorima vode za piće. U južnoj Australiji istraživanja su vršena u 11 gradova duž reke Mari, istorijskom epicentru cijanobakterija. Osobe koje su pile vodu iz reke i nakon hlorinacije imale su veću verovatnoću razvoja gastrointestinalnih simptoma, a one osobe koje su vodu koristile za kućnu upotrebu razvile su pored gastrointestinalnih i dermatološke simptome, za razliku od osoba koje su koristile kišnicu. Takođe, pronađena je korelacija između simptoma i koncentracije cijanobakterija. Da bi ispitali vezu između cijanobakterija i prevremenog rađanja, male težine novorođenčadi i kongenitalnih poremećaja, ispitano je 32.700 novorođenčadi u Australiji od 1992. do 1994. Iako su dobijene statistički značajne veze između ekspozicije tokom prvog tromesečja trudnoće i procenta prevremenog rađanja, male težine novorođenčadi i kongenitalnih malformacija, ipak nije utvđen tačan odgovor zavisen od doze tokom čitavog gestacionog perioda, te su za pouzdane zaključke potrebna dalja istraživanja.

U Malmeu u Švedskoj je 1994. godine nakon mešanja netretirane rečne vode sa izvorom vode za piće došlo do trovanja 121 od 304 stanovnika tog naselja. U ovom incidentu netretirana voda iz eutrofne reke Kavlingeana slučajno je prodrila u izvor komunalne pijaće vode. U narednim danima, kod 121 osobe, koje su konzumirale kontaminiranu vodu, razvili su se brojni simptomi uključujući dijareju, glavobolju, povraćanje, temperaturu, bol u trbuhu i mišićima. Pored toga što nisu pronađeni patogeni koji bi mogli biti odgovorni za pojavu gastroenteritisa, registrovane su i obolele domaće životinje koje su pile kontaminiranu vodu iz reke sa cvetajućom cijanobakterijom *Planktothrix agardhii* (*Oscillatoria agardhii*). Sve to značajno ukazuje na mogućnost učešća ovih cijanobakterija u incidentu, što je podržano i pronalaskom mikrocistina u uzorku cvetajuće vode neposredno pre i posle izbijanja epidemije. Interesantna je činjenica da su se sve osobe, koje su pile čaj, razbolele u danima nakon ove havarije, dok niko od radnika koji su pili kafu nije bio bolestan. Postoji mogućnost da su toksini i metaboliti, oslobođeni iz ćelija nakon prokuvavanja vode, eliminisani filtriranjem tokom pripreme kafe. Međutim, ovo nije bio slučaj prilikom pripreme čaja, kada se kesica čaja samo ubaci u prokuvanu vodu koja je sadržala koktel cijanobakterijskih metabolita. Prema tome, može se pretpostaviti da su cijanotoksini učestvovali u uočenim simptomima.

Brojni su primeri letalnog trovanja životinja nakon upotrebe vode za piće iz slatkovodnih ekosistema u kojima su masovno bile razvijene cijanobakterije. Prvi slučajevi sežu još iz XIX

veka, a kasnija istraživanja ukazuju na slučajeve trovanja ovaca, krava, konja, svinja, pasa, mačaka, riba, glodara, vodozemaca, ptica, slepih miševa, zebri i nosoroga².

Iskustva iz Republike Srbije

U akumulaciji za vodosnabdevanje Vrutci, koja snabdeva vodom za piće grad Užice i nekoliko okolnih sela, krajem decembra 2013. godine primećena je mrlja crvene boje. Tamno purpurno-crvene plutajuće formacije vetar je naneo u priobalje. Boja vode bila je primetno izmenjena, tamno purpurno-crvena i to ne samo na površini nego i duž vodenog stuba. Na nekim mestima su se nagomilale debele nakupine biomase koja je podsećala na crvenu prostirku (Slika 40).



Slika 40. Promena boje vode, pojava pene, prevlaka i nakupina u vidu "crvenog tepiha"- cvetanje *Planktothrix rubescens* u Jezeru Vrutci.

Analizom uzoraka vode je utvrđeno cvetanje cijanobakterije *Planktothrix rubescens*. Crvena cijanobakterija, koja je nekada bila poznata kao *Oscillatoria rubescens*, i reklasifikovana u *Planktothrix rubescens*, predstavlja vrstu koja je prisutna u hladnim vodama srednje Evrope i južnijih subalpskih jezera, gde najčešće cveta u metalimnionu³. Cvetanje planktotriksa u metalimnionu je značajno za praćenje populacije jer se pokazalo da produkuje najveće količine toksina po biomasi, a pored toga ga je teško iskoreniti. Planktotriks može da opstane i da se razmnožava u metalimnionu zbog niza svojih karakteristika. Njegove potrebe za svetlošću i temperaturom su manje u poređenju sa drugim fototrofnim mikroorganizmima i toleriše najširi spektar temperature u poređenju sa predstavnicima

rodova *Microcystis*, *Anabaena* i *Aphanizomenon*. *Planktothrix rubescens* poseduje pigment fikoeritrin koji ovoj cijanobakteriji daje crvenu boju i u procesu fotosinteze joj omogućava da koristi ceo spektar (od 400 do 700 nm) fotosintetički aktivne radijacije, zbog čega i pri slaboj svetlosti i na velikim dubinama ima izvanrednu sposobnost fotosinteze. Sa druge strane, ovu vrstu fotoinhibiše jaka iradijacija. Iz tih razloga može da se održi na većim dubinama pri slabijoj svetlosti i nižoj temperaturi, kao i tokom zime i jeseni u epilimnionu kada su dani kraći i hladniji, sa manje sunčeve svetlosti. Pored toga u metalimnionu dostupnost nutrijenta može biti dobra, a i smanjena je kompeticija sa drugim fotosintetičkim organizmima. Takođe, za razliku od većine cijanobakterija, *Planktothrix* ima mogućnosti da koristi fosfor neorganskog i organskog porekla. Na osnovu toga ova cijanobakterija ima veliku moć preživljavanja, što otežava njeno iskorenjivanje³.

Po završetku fizičko-hemijskih analiza jezerske vode u decembru 2013. godine, konstatovano je značajno pogoršanje kvaliteta vode, i na osnovu dobijenih rezultata, prema Pravilniku o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda (Sl. glasnik RS, br. 74/2011), voda je klasifikovana kao površinska voda pete klase odnosno lošeg ekološkog statusa. Nakon objavljivanja podataka da se cijanobakterija *Planktothrix rubescens* nalazi u broju od oko 10.000 ćelija/L u prečišćenoj, dezinfikovanoj vodi sa postrojenja i oko 1.000 ćelija/L u uzorku vode iz mreže, Republička sanitarna inspekcija je donela odluku o zabrani upotrebe vode za piće i pripremanje hrane i preporuku da se voda ne koristi u te svrhe ni nakon prokuvavanja, kao i uputstvo da se voda sa postrojenja može koristiti samo u sanitarno-tehničke svrhe. Ovako brza reakcija nadležnih organa je bila značajna jer je sprečila izlaganje ljudi cijanobakterijama i njihovim toksinima, a time su sprečene i potencijalne zdravstvene posledice koje mogu nastati usled delovanja cijanotoksina koje ova vrsta može da produkuje. Vrlo striktna zabrana upotrebe vode iz gradske mreže i pronalaženje alternativnih rešenja je bio veoma značajan potez vlasti, veoma redak u sličnim situacijama, što je među naučnim krugovima u svetu prepoznato kao "Užice case"⁴.

Najveća brojnost ćelija planktotriksa nakon cvetanja je zabeležena u najplićem delu, na ulazu u akumulaciju, i iznosila je 107.900 ćelija/mL³. Na osnovu predloga SZO monitoringa i menadžmenta za vode u svrhu vodosnabdevanja i rekreacije, ove vrednosti spadaju u kategorije opasnosti visokog stepena (više od 100.000 cijanobakterijskih ćelija/mL), što podrazumeva srednju zdravstvenu opasnost sa kratkotrajnim zdravstvenim negativnim posledicama (iritacije kože i sluzokože, intestinalne tegobe), ali i visoku zdravstvenu opasnost pri dužem izlaganju visokim koncentracijama toksina sa mogućnostima akutnog trovanja sa letalnim ishodom³.

Sakupljena biomasa cvetajućeg planktotriksa tokom januara meseca 2014. godine pokazala je vrlo visoku toksičnost u bioeseju sa artemijom (intracelularna i ekstracelularna komponenta), što je potvrđeno i LC-MS/MS analizama kojima je detektovano značajno

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

prisustvo mikrocistina (dmMC-RR 18,5 µg/L; dmMC-LR 4,6 µg/L; MC-LR 0,05 µg/L; MC-YR 0,04 µg/L)⁴. Po ovom parametru, zbog prisustva toksične biomase, voda u akumulaciji Vrutci bi sa aspekta vodosnabdevanja i rekreacije predstavljala opasnost visokog stepena i pretnju zdravstvene bezbednosti. U vodovodnoj vodi uzorkovanoj u januaru iste godine detektovano je 5,7 µg/L dmMC-RR. Iako su u pitanju koncentracije koje prevazilaze dozvoljene granične vrednosti za MC-LR u pijaćoj vodi (1 µg/L; LD₅₀ 50 µg/kg), za dominantno prisutan tip mikrocistina (dmMC-RR) LD₅₀ se kreće od 180-250 µg/kg u zavisnosti od strukture, što znači da je manje je toksičan od MC-LR⁴.

Mikrocistini su detektovani i u ribi iz rezervoara Vrutci izlovljenoj u jesen 2013. godine i aprila 2014. godine⁴. Zbog navedenih rezultata i višenamenskog korišćenja akumulacije Vrutci, građani Užica su mogli biti izloženi cijanobakterijama i njihovim toksinima na više načina. Pored osnovne namene akumulacije Vrutci, u svrhu vodosnabdevanja, Užičani su akumulaciju koristili i u rekreativne svrhe. Obale akumulacije se već više godina koriste kao odredište za kampovanje i ribolov, a u letnjim mesecima za kupanje i druge rekreativne aktivnosti. Dakle, putevi ekspozicije cijanotoksinima u ovom slučaju mogli bi biti upotreba kontaminirane vode za piće, rekreativne aktivnosti prilikom kojih može doći do akcidentnog gutanja vode, inhalacija kapljica vode, a prvenstveno dermalni kontakt sa vodom, kao i ishrana kontaminiranom ribom.

U cilju detaljnijeg razmatranja potencijalnog uticaja cijanotoksina na zdravlje ljudi u saradnji sa Zavodom za javno zdravlje Užice, prikupljeni su podaci o broju obolelih građana od određenih oboljenja koja se mogu dovesti u vezu sa cvetanjem cijanobakterija, a to su oboljenja sistema za varenje (K52-K55; K58-K67) i oboljenja kože i potkožnog tkiva (L10-L99)⁴. Prema statističkim analizama epidemioloških podataka, broj pacijenata sa navedenim oboljenjima digestivnog sistema, kože i potkožnog tkiva je bio značajno veći u periodu od 2012-2015. godine u poređenju sa prethodne četiri godine⁴. U svetlu ovih epidemioloških istraživanja moguće je pretpostaviti da su pomenuti zdravstveni problemi mogli imati veze sa izloženošću ljudi cijanotoksinima i da se cvetanje planktotriksa dešavalo i pre decembra 2013.godine. Međutim, za sigurne zaključke je neophodno uraditi mnogo detaljnije epidemiološke analize u kojima bi se razdvojili pacijenti koji dolaze na kontrolne preglede nakon dugogodišnjih bolesti od pacijenata koji se javljaju prvi put. Ovim podacima se ne može ni potvrditi, a ni negirati veza između pomenutih bolesti i prisustva cijanotoksina u vodi za piće, ali se može pokazati da su epidemiološka istraživanja komplementarna analitičkim rezultatima i da predstavljaju ponekad veoma važnu pomoćnu metodologiju sofisticiranim i naprednim tehnikama detekcije cijanotoksina i podršku u analizi njihovog delovanja u slučaju pojavljivanja u sistemima za vodosnabdevanje, rekreaciju i navodnjavanje.

Na osnovu sprovedene ankete, 29 ispitanika je videlo uginule životinje na jezeru Vrutci i to većinom ribu³. Očevidci su opisali uginuće manjeg broja riba, pri čemu su ribe plivale

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

dezorjentisano, bočno i u krug, a kod uginule ribe moglo se uočiti intenzivno crvenilo u predelu škrga (Slika 41). Pored toga, ispitanici su navodili i druge uginule životinje kao što su patke, pevac, jastreb, ovan, ovca, koza, krava, konj i jazavac³. Da li je uzrok uginuća ovih životinja trovanje cijanotoksinima, nije moguće utvrditi na ovaj način, ali svakako predstavlja upozorenje i zahteva dalja istraživanja. Pored toga kućni ljubimci, a prvenstveno psi pojedinih ispitanika, su došli u kontakt sa vodom (Slika 42), a neki od njih potvrdili su naknadne zdravstvene probleme životinja u formi: promena na koži, crvenila, iritacija i krasti, manjih alergija i bolova u stomaku, koji između ostalog mogu biti posledice delovanja cijanotoksina³.

Cijanobakterije mogu biti uzročno povezane sa masovnim pomorom ribe koji se dogodio 2012. godine u Aleksandrovačkom jezeru, koje se prvenstveno koristi za navodnjavanje⁵. Takođe, visok nivo javnog medijskog interesovanja dogodio se u junu 2009. godine nakon uginuća ribe i nekoliko stotina domaćih životinja (krava i svinja), koje su pile vodu iz reke Ponjavica u blizini grada Pančeva. Tačan uzrok uginuća nije utvrđen, međutim, istraživanja u 2008. i 2009. godini na Ponjavici su pokazala prisustvo mikrocistina u vodi, mulju, biljkama i ribi⁶. Moguće je da su ovi cijanotoksini doprineli uginuću životinja, međutim za ovakav zaključak nema dovoljno podataka.



Slika 41. Slučajevi uginulih riba sa crvenilom na škrgama (Foto: Tijana Jeftić).



Slika 42. Vidra (levo) i pas (desno) piju vodu iz akumulacije Vrutci (Foto: Ivetić, Izveštaj 2014).

8.1.2. Hronično unošenje kontaminirane vode za piće i epidemiološka istraživanja

Visok nivo rizika po ljudsko zdravlje je povezan kako sa akutnim unosom velikih količina cijanotoksina tako i sa hroničnim izlaganjem malim dozama putem vode za piće koja je kontaminirana metabolitima toksičnih cijanobakterija. O negativanom hroničnom delovanju cijanotoksina na zdravlje ljudi može se zaključivati na osnovu tri parametra:

- epidemiološki dokazi koji uključuju trovanje ljudi;
- trovanje životinja;
- toksikološka ispitivanja.

Epidemiološki dokazi su od posebne važnosti jer indirektno ukazuju na vezu između toksina i zdravlja ljudi i kao takvi ne mogu biti dobijeni iz eksperimenata sa životinjama⁸. To je važno za sveobuhvatno sagledavanje efekata cijanotoksina u potpuno prirodnim uslovima. Od svih do sada poznatih cijanobakterijskih toksina mikrocistini predstavljaju najveću pretnju za ljudsko zdravlje zbog potencijalnog rizika od hroničnog izlaganja manjim koncentracijama toksina putem vode za piće kada mogu dovesti do promocije primarnog kancera jetre (PKJ). Primarni kancer jetre je čest i agresivan humani tumor koji je široko rasprostranjen u svetu. Razvoj i progresija ovog karcinoma predstavlja tipičan višestepeni kancerogeni proces. Maligna transformacija u jetri počinje nakon virusne hronične infekcije ili ciroze. Cirozu mogu da prouzrokuju spoljni stimulusi kao što su: virus hepatitisa B (HBV), virus hepatitisa C (HCV), aflatoxin B1, alkohol i MC-LR. Uprkos uverenju da drugi rizični faktori uzrokuju rak jetre, neka istraživanja upućuju na to da i mikrocistin

može biti potencijalni kancerogen, jer ponovljene injekcije mikrocistina indukuju neoplastične nodule u jetri miša. Pored toga, MC-LR indukuje substitucionu mutaciju na K-ras kodonu u humanim ćelijama. Poznato je da hepatitis preko ciroze jetre dovode do PKJ. Oštećenje jetre može nastati i usled kumulativnog izlaganja malim dozama cijanotoksina, što može dovesti do ciroze čija je dalja komplikacija PKJ. U tom slučaju, geneza kancera jetre može biti inicirana istim faktorom rizika, što nam daje mogućnost da pretpostavimo da niske doze MC-LR mogu da generišu PKJ tokom vremena. Kumulativni uticaj mikrocistina se može smatrati preduslovom pojave PKJ-a pre nego visoke koncentracije ovog toksina u vodi za piće⁷.

Mikrocistini iz vode za piće se mogu povezati i sa kancerogenezom kolona i rektuma, što upućuje da treba ispitati sve moguće posledice prisustva cijanotoksina u vodi. Iako je mikrocistinu glavna meta jetra, on može da utiče i na druge organe kao što je kolon, zatim mozak, srce, bubrezi i reproduktivni organi.

Epidemiologija primarnog kancera jetre - stanje u svetu

Hepatotoksini u vodi za piće mogu biti faktor rizika za razvoj primarnog kancera jetre, ali samo mali broj epidemioloških studija se bavi ovom problematikom. Potencijalna povezanost povećanog rizika za pojavu primarnog kancera jetre sa kvalitetom površinske vode uočena je u Floridi i Kini, gde je primećeno da hepatotoksini iz rezervoara za vodu za piće mogu uticati na razvoj primarnog kancera jetre i kolorektalnog kancera. Epidemiološka proučavanja u pojedinim delovima Kine su pokazala da je mikrocistin LR jedan od rizičnih faktora u nastanku primarnog kancera jetre. Visoke incidence ovog kancera su se poklapale sa prisustvom mikrocistina u vodi u regionima gde su prisutni aflatoksin u hrani i povećana incidenca hepatitisa (virus B). Kombinovana ekspozicija MC sa aflatoksinom B1 i/ili HVB/C prouzrokovala je hepatokancero-genezu.

Epidemiologija primarnog kancera jetre - iskustva iz Republike Srbije

Epidemiološka istraživanja u Srbiji su ukazala da se cijanobakterijski metaboliti mogu smatrati važnim spoljašnjim faktorom u razvoju primarnog kancera jetre, ali potencijalno i nekih drugih maligniteta⁷. Izvori podataka o incidenci primarnog kancera jetre u Centralnoj Srbiji bili su publikovani materijali Instituta za zaštitu zdravlja Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Beograd (Registar za rak u centralnoj Srbiji, 1999.-2008.) i Centra za prevenciju i kontrolu zaraznih bolesti (Zarazne bolesti na teritoriji Republike Srbije bez Kosova i Metohije od 1999. do 2008.) odakle su preuzeti i podaci o virusu hroničnog hepatitisa B i hepatitisa C. Podaci o mortalitetu ciroze jetre su u elektronskoj formi takođe dobijeni iz Instituta za zaštitu zdravlja Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“. Podaci vezani za teritoriju Vojvodine dobijeni su od Registra za maligne neoplazme Vojvodine, Instituta za onkologiju Vojvodine iz Sremske Kamenice.

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

Prema administrativnoj podeli, centralna Srbija ima 18 okruga (Slika 36). Epidemiološki popis se obavlja tako da se incidenca primarnih kancera sakuplja iz svih okruga i u centralni registar beleži prema okruzima. Na taj način je moguće porediti podatke nastanka PKJ u odnosu na način snabdevanja pijaćom vodom i prisustvo cvetajućih cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje.

Prema istraživanjima od 1980. do 2005. godine, u velikom broju vodenih ekosistema u regionima Srbije dolazilo je do cvetanja cijanobakterija⁸. Naročito su ugroženi površinski rezervoari vode u centralnoj Srbiji (Slika 43).



Slika 43. Regionalna podela centralne Srbije.

Legenda: 1.Rasinski, 2.Zaječarski, 3.Mačvanski, 4.Borski, 5.Podunavski, 6.Pčinjski, 7.Moravički, 8.Zlatiborski, 9.Braničevski, 10.Pomoravski, 11.Beogradski, 12.Jablanički, 13.Raški, 14.Kolubarski, 15.Pirotski, 16.Šumadijski, 17.Nišavski, 18.Toplički

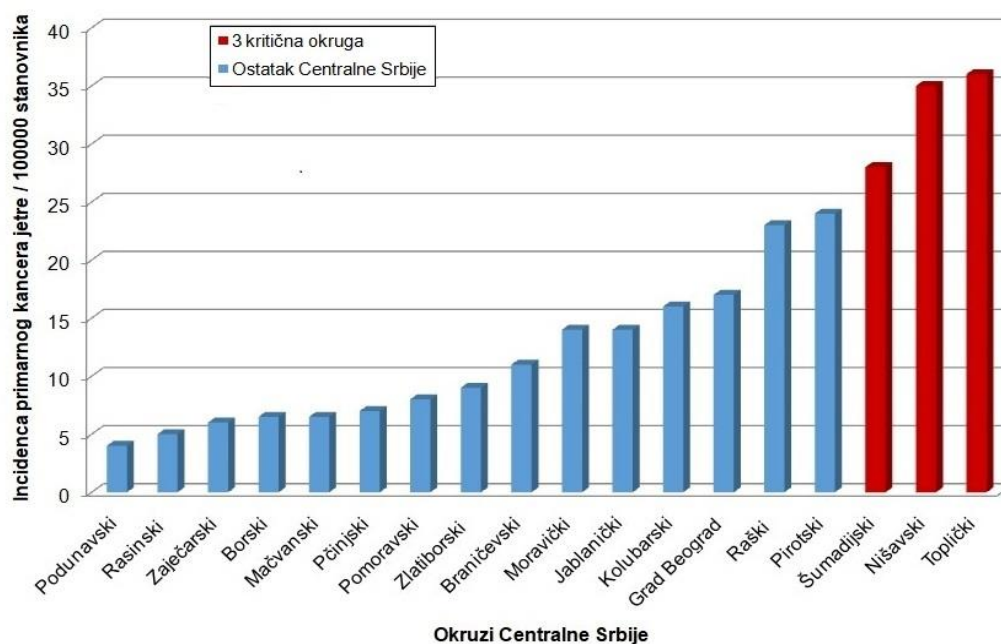


Slika 44. Cvetanje cijanobakterija u akumulaciji za vodosnabdevanje: Grlšte kod Zaječara, uvala zapadno od vodozahvata, 2007. godine (levo) i Čelije kod Kruševca, 2004. godine (desno).

Od 20 akumulacija za vodosnabdevanje, u 9 je registrovano višegodišnje, produženo i obimno cijanobakterijsko cvetanje, uglavnom tokom letnjih meseci: Gruža, Grošnica, Grlšte, Brestovac, Garaši, Bovan, Zavoj, Čelije i Pridvorica. Nasuprot tome, Vojvodina kao kontrolna grupa regiona ima podzemne izvore vode koji ne podležu ovom fenomenu. Pored registrovanog cvetanja cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje, detektovano je i prisustvo cijanotoksina u nekima od njih. U akumulaciji Čelije, koja se koristi za snabdevanje vodom za piće grada Kruševca, tokom 2004. godine dogodilo se cvetanje cijanobakterija iz rodova *Aphanizomenon*, *Anabaena* i *Microcystis* (Slika 44). Uzorci vode prikupljeni iz rezervoara sadržali su 650 μg MC-LR/L, dok je u vodovodnoj vodi Kruševca, koncentracija MC-LR bila 2,5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ¹⁰.

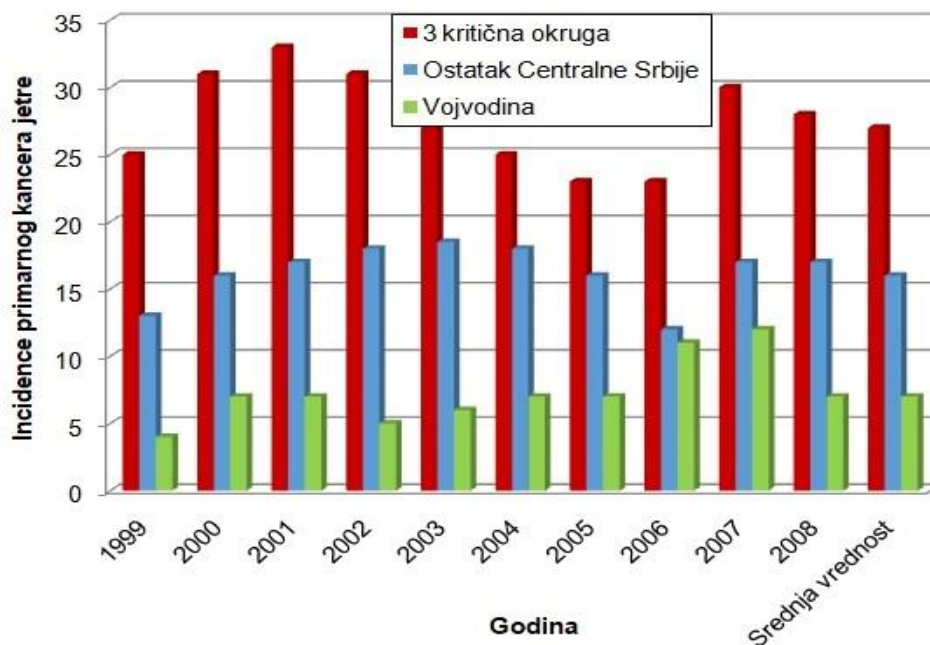
Prva epidemiološka istraživanja incidence PKC u Srbiji su urađena za period 2000.-2002. Tokom ovih istraživanja je konstatovano da su prema vrednosti incidence PKJ najugroženija tri regiona: Šumadijski, Nišavski i Toplički gde je srednja vrednost incidence iznosila 34,7. U Vojvodini (sa incidencom PKJ od 5,2) kao i u delovima centralne Srbije koji nisu zahvaćeni cvetanjem vode (incidenca PKJ 13,6) incidence primarnog kancera jetre su bile značajno niže. Okruzi u kojima je najviša incidenca PKJ, vodom se snabdevaju iz rezervoara koji su zahvaćeni cvetanjem cijanobakterija tokom dužeg perioda godine (Bovan, Gruža, Grošnica, Garaši, Pridvorica, Zavoj, Bresnica i Brestovac), te bi se nejednaka geografska distribucija raka jetre u centralnoj Srbiji mogla dovesti u vezu sa kvalitetom vode za piće. Isti trend incidence PKJ se nastavio i sledećih 6 godina, tako da je analizom desetogodišnjeg perioda (1999.-2008.) konstatovan sledeći odnos incidence PKJ po regionima (Slika 45):

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA



Slika 45. Incidence primarnog kancera jetre u centralnoj Srbiji u periodu 1999.-2008. godine.

Komparativni odnos incidenci po godinama u kritičnim i kontrolnim regionima se može videti na Slici 46:

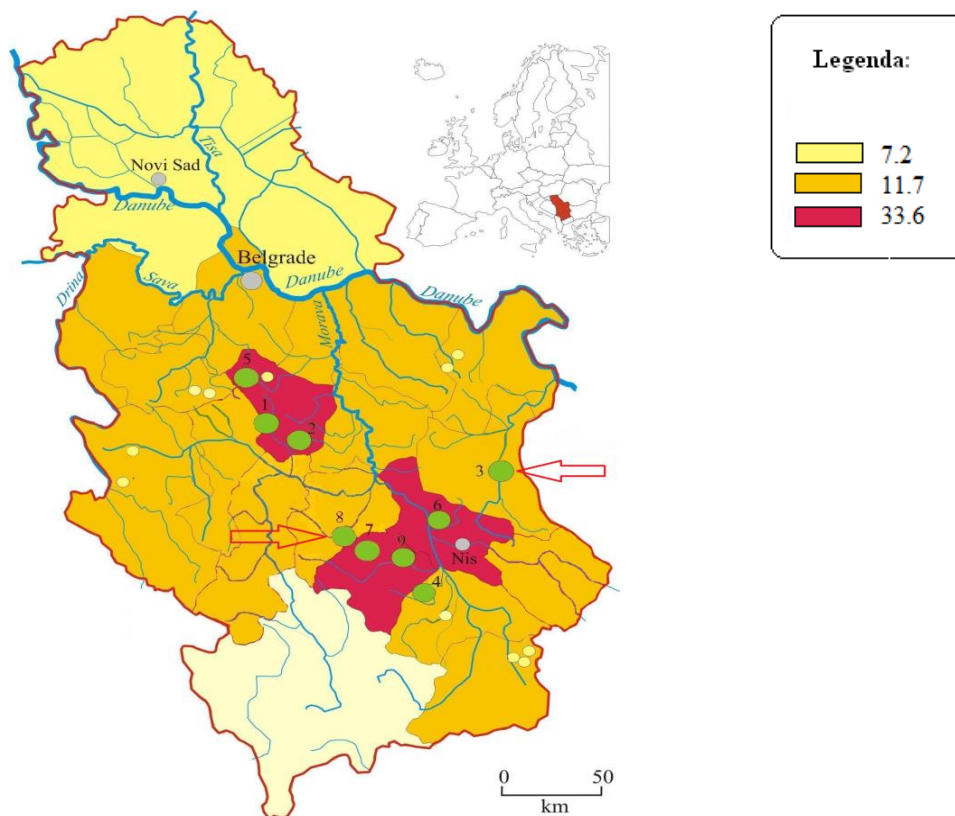


Slika 46. Incidence primarnog kancera jetre u Srbiji u periodu od 1999.-2008. godine.

Tokom desetogodišnjeg perioda, najviše srednje vrednosti incidence PKJ su konstatovane u Topličkom (36,8), Nišavskom (35,4), i Šumadijskom (28,6) regionu. Imajući u vidu da se

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

najveći broj akumulacija za vodosnabdevanje sa cijanobakterijskim cvetanjem nalazi upravo u ova 3 regiona (Slika 47), još jednom je potvrđena sumnja da metaboliti cijanobakterija proizvedeni i oslobođeni u vodu tokom cvetanja cijanobakterija mogu biti dovedeni u vezu sa povećanom incidencom PKJ. Prosečna vrednost incidence u kritičnim regionima je bila u ispitivanom periodu 33,6 dok je u kontrolnom regionu (Vojvodina) iznosila 7,2 na 100.000 stanovnika, a u svim ostalim regionima Srbije prosečna vrednost je iznosila 11,7.

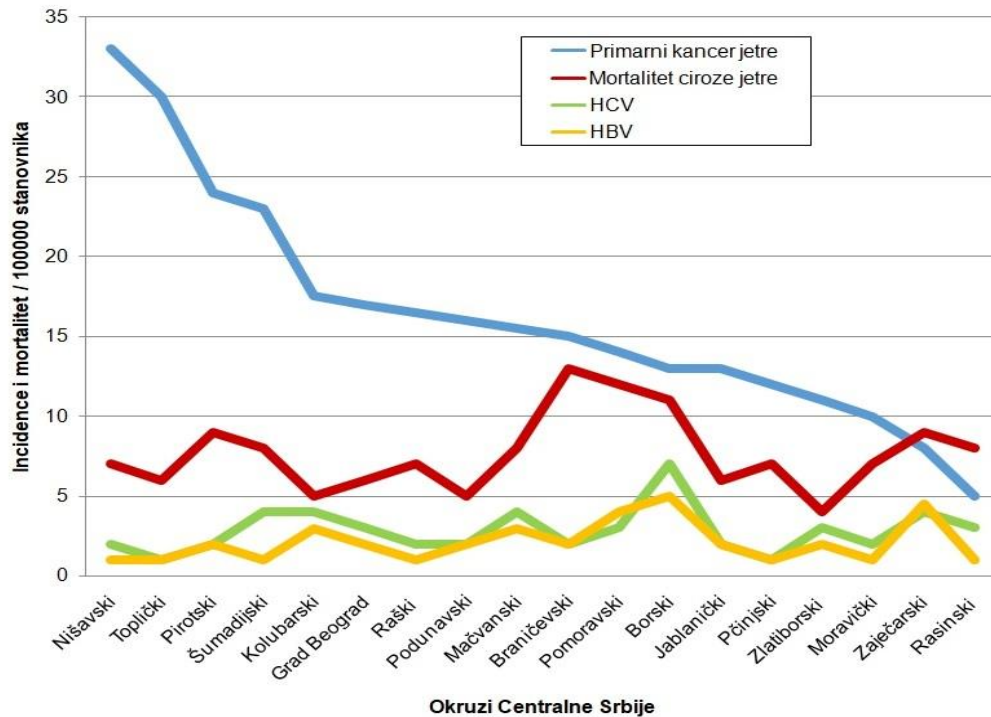


Slika 47. Regioni u Centralnoj Srbiji sa najvišim incidencama primarnog kancera jetre za period 1999.-2008. i rezervoari u kojima cvetaju cijanobakterije (strelice pokazuju rezervoare Čelije i Grlišku iz kojih se sirova voda obrađuje ozonizacijom u Kruševcu i Zaječaru).

Poznato je da se razvoj PKJ najviše povezuje sa cirozom i hroničnim virusnim hepatitisima. Smatra se da je u većini zemalja u 80-90% slučajeva ciroza bolest koja prerasta u rak jetre. Međutim, to se ne može jasno zaključiti na osnovu podataka o mortalitetu ciroze jetre iz perioda od 1999. do 2008. godine u centralnoj Srbiji (Slika 48). Iz dobijenih podataka o srednjim vrednostima incidenci za PKJ, HBV, HCV i mortaliteta ciroze jetre od 1999. do 2008. godine može se zapaziti da okruzi kao što su Šumadijski, Nišavski i Toplički koji imaju najviše vrednosti incidence raka jetre imaju srednje vrednosti mortaliteta ciroze i niske incidence virusnih hepatitisa. Na osnovu ovoga može se konstatovati da tokom praćenog vremenskog perioda ne postoji korelacija između PKJ i ovih bolesti za koje se smatra da predstavljaju njegove najvažnije rizične faktore (Slika 48). Prikazana je opadajuća kriva

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

incidence PKJ u periodu od 2000. do 2006. godine od Nišavskog okruga sa najvećom incidencom do Rasinskog sa najmanjom. Na slici se nalaze i krive mortaliteta ciroze i incidence hepatitisa B i C za date okruge, koje su međusobno veoma slične, ali ne prate krivu PKJ. Još jednom potvrđeno nepostojanje zavisnosti PKJ od rizičnih faktora može da ukaže na to da pored ovih poznatih i opšte prihvaćenih rizičnih faktora postoje i neki drugi koji u velikoj meri mogu da utiču na pojavu raka jetre. Jedan od mogućih faktora mogao bi biti posledica cvetanja cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje.



Slika 48. Odnos incidence PKJ, ciroze, HBV i HCV u centralnoj Srbiji od 2000. do 2006.godine.

Ovi podaci postavljaju hipotezu koja ne sugerise da cijanotoksini u pijaćoj vodi predstavljaju jedini ili definitivni rizični faktor PKJ, već samo ukazuje da i cijanotoksini, između ostalog, mogu biti potencijalni faktor rizika na koji bi trebalo u budućnosti obratiti pažnju.

Tokom ovih istraživanja uočena je povezanost cvetanja cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje sa povećanim incidencama PKJ u kritičnim regionima. Nije dovedena u vezu direktna pojava mikrocistina u vodi za vodosnabdevanje sa PKJ jer su podaci o periodima cvetanja cijanobakterija važniji nego merenja mikrocistina u vodi, zbog mogućnosti da na genezu PKJ mogu uticati i drugi cijanotoksini i metaboliti cijanobakterija nastali tokom cvetanja. Kako bi se došlo do pouzdanijih zaključaka u vezi sa statistički značajnim korelacijama, neophodno je ispitati prisustvo svih cijanotoksina (ne samo mikrocistina) u vodovodnim rezervoarima i pijaćoj vodi. S druge strane, samo prisustvo

mikrocistina u rezervoarima ne predstavlja direktnu opasnost za ljude, posebno ako postoji efikasan sistem prečišćavanja vode za piće.

Dobri poznavaoци sistema vodosnabdevanja u centralnoj Srbiji mogli bi uložiti veoma ozbiljnu primedbu na do sada izložena tumačenja istraživanja. Dobro je poznato, a i na našoj mapi uredno označeno sa strelicama (Slika 47), da se još dva regiona snabdevaju vodom za piće iz površinskih akumulacija. To su Rasinski region u kojem se voda prerađuje iz jezera Čelije, poznatom po cvetanju cijanobakterija i Zaječarski region koji koristi vodu iz Grliške akumulacije, takođe cvetajućeg rezervoara. Činjenica da je incidenca PKJ u ovim regionima tokom desetogodišnjeg istraživanja među najnižim (Slika 48) je dovela u sumnju hipotezu o vezi između cvetanja cijanobakterija i geneze PKJ. Međutim, objašnjenje je došlo iz samih vodovoda: vodovod u Kruševcu koristi proces ozonizacije u redovnoj pripremi vode za piće kontinuirano od 1985. godine, a fabrika vode u Zaječaru koristi ozonizaciju od 1990. godine tokom meseci kada cijanobakterije cvetaju. To su jedine dve fabrike vode u regionima sa površinskim akumulacijama za vodosnabdevanje u Srbiji koje su koristile ozonizaciju do 2008. godine. U slučaju da je naša pretpostavka tačna, iz ove dve fabrike vode smo dobili ne samo odgovor na pitanje zašto je u tim regionima incidenca PKJ veoma niska (niža nego u kontrolnom regionu), nego i šta preduzeti da se iz cvetajućeg rezervoara dobije bezbedna voda po pitanju uklanjanja cijanotoksina. U svetu je ozonizacija dobro poznata kao jedna od najefikasnijih metoda razgradnje i uklanjanja mikrocistina iz sirove vode u procesu pripreme vode za piće. Na taj način bi mogao biti donet zaključak da je rešenje problema sa cijanotoksinima u vodi za piće poznato. Međutim, mi nećemo doneti takav zaključak sve dok se ne razjasni epidemiološki podatak koji govori da je incidenca Non Hodgkin limfoma upravo u regionima koji koriste ozonizaciju najveća u Srbiji (25) u poređenju sa srednjom vrednosti incidence ovog limfoma svih ostalih regiona (2,9). Budući da i ozonizacija ima poznate nusprodukte koji mogu biti faktori rizika za nastanak nekih drugih bolesti, zaključak će se svesti na jednu od poruka koje nosi ova knjiga, na generalni stav autora, a to je da rešenje za problem cvetanja cijanobakterija ne treba tražiti u metodama eliminacije cijanotoksina, nego u metodama sprečavanja cvetanja. To je najsigurnije rešenje i najtačniji zaključak koji se svodi na dobro poznatu narodnu izreku „Bolje je sprečiti nego lečiti“.

Predstavljeni rezultati ove ekološke i epidemiološke studije, koji omogućavaju povezivanje cvetanja cijanobakterija u akumulacijama za vodosnabdevanje u regionima Srbije sa najvećim incidencama PKJ, služe samo kao upozorenje da cijanotoksini kao faktori rizika mogu da se smatraju potencijalnim uzročnicima PKJ. Direktni zaključak koji će povezati pojavljivanje kancera jetre ili čak karcinogenezu kod ljudi, sa prisustvom cijanotoksina u pijaćoj vodi je nemoguće izvesti u ovoj vrsti studije, a verovatno i u nekoj mnogo detaljnijoj studiji. Zato je važno naglasiti mogućnost takvog ishoda, pogotovo u svetlu svakodnevnog, nekontrolisanog smanjenja kvaliteta vode, produženog prisustva cijanotoksina u vodenim ekosistemima u toku cele godine i neadekvatnih metoda uklanjanja cijanotoksina u

fabrikama vode. Jer vreme potrebno za dobijanje odgovarajućih čvrstih naučnih dokaza koji potvrđuju ovu hipotezu, može biti veoma dugo. Na osnovu svega ovoga i sa trenutne vremenske distance, postoji samo jedno važno pitanje na koje treba odgovoriti: da li će cena neznanja i nebrige biti visoka?

8.2. Kožni kontakt, akutno unošenje ingestijom i inhalacija cijanotoksina tokom rekreativnih aktivnosti

Do kožnog kontakta sa cijanobakterijama i njihovim toksinima može doći tokom boravka na vodama za rekreaciju u kojima se javlja cijanobakterijsko cvetanje. Formirajući na površini vode slojeve biomase, cijanobakterije predstavljaju opasnost za plivače tokom aktivnosti u vodi i nakon izlaska iz nje jer se cijanobakterije zadržavaju na koži i odeći za kupanje. U tim slučajevima se obično javljaju dermalne iritacije i alergijske reakcije kod ljudi. Dermatotoksičnost u vodama za rekreaciju se može prepoznati kao iritacija kože - dermatitis, osip na koži, plivački svrab i duboka deskvamacija kože. Širok spektar drugih simptoma je opisan i povezan sa rekreativnom izloženosti cijanobakterijama, kao na primer: konjuktivitis, iritacije očiju, zapaljenje uha, ranice u ustima, jake glavobolje, vrtoglavica, groznica, mijalgija, suv kašalj, astma, upala pluća, povraćanje i drugi gastrointestinalni simptomi. Slatkovodne cijanobakterije izazivaju pomenute simptome najčešće nakon plivanja ili sportova na vodi u kojoj su prisutne cijanobakterije i njihovi toksini. Toksična svojstva su vezana za slatkovodne cijanobakterije iz rodova: *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* i *Gloeotrichia*, koje najčešće izazivaju kožne iritacije i alergijske reakcije posle plivanja ili vodenih sportova.

Biomasa cijanobakterija se nanosi talasima i formira guste nakupine na površini priobalnih voda. Tokom plivanja u kontaminiranim vodama cijanobakterijski filamenti i ćelije se mogu nakupiti ispod kupaće odeće, gde dolazi do kontakta sa kožom što može dovesti do njene iritacije. "Plivački svrab" je ozbiljni kontaktni dermatitis koji se javlja posle kupanja u vodama u kojima se masovno razvija cijanobakterija *Lyngbya majuscula*. U roku od nekoliko minuta do nekoliko sati javlja se svrab i osećaj pečenja kože, a crvenilo i vidljiv dermatitis se razvijaju do osam sati nakon kontakta, a zatim se formiraju plikovi i dolazi do duboke deskvamacije¹¹.

8.2.1. Stanje u svetu

Ingestija vode tokom rekreacije (npr. plivanja, vožnje kanuom i skijanja na vodi) može da doprinese izloženosti cijanotoksinima. Prvi detaljan opis u lekarskom nalazu nakon slučajnog gutanja cijanobakterija prilikom plivanja sadržao je: bolove u stomaku i mučninu tri sata nakon incidenta, usledili su povišena temperatura, bolovi u mišićima i zglobovima

ekstremiteta i bolna dijareja sa mikrocistisom i anabenom detektovanim u fecesu. U SAD-u 1985. godine nakon direktnog kontakta ljudi sa vodom u kojoj su se masovno razvile cijanobakterije, konstatovana je pojava mučnine, povraćanja, dijareje, groznice i uho-grlonos infekcija¹.

U Australiji, 1995. godine vršena su epidemiološka istraživanja zdravstvenih komplikacija kod 852 pacijenta nakon kontakta sa rekreacionim vodama, koja su pokazala da se simptomi trovanja javljaju tokom 2-7 dana nakon kontakta sa vodom. To su najčešće simptomi gripa, povraćanje, dijareja, osipi na koži, ulcerozne promene na usnama, groznica, iritacije očiju i ušiju. Simptomi su se povećavali sa trajanjem ekspozicije i gustinom cijanobakterijskih ćelija, ali nisu bili u zavisnosti od prisustva određenih cijanotoksina. Postoji i niz drugih primera rekreativnih aktivnosti na vodi koje su dovele do zdravstvenih problema (kožni osip, infekcije uha i oka, ranice u ustima, gastrointestinalni i respiratorni problemi) kod više od 800 ljudi na šest lokacija u Novom Južnom Velsu, Viktoriji i Južnoj Australiji¹.

U Milvokiju, SAD 2002. godine smrt tinejdžera je bila povezana sa trovanjem cijanotoksinima. Sedamnaestogodišnjak se kupao u jezeru na golf terenu. Ovo je kod tinejdžera izazvalo muku i povraćanje, dalje mu se stanje progresivno pogoršavalo, sledio je šok, konvulzije, prestanak rada srca i smrt oko 48 h nakon izlaganja kontaminiranoj vodi. Jedan od njegovih prijatelja koji je progutao vodu imao je bolove u stomaku i dijareju, dok su ostali ispoljili blaže oblike simptoma. Analizom stolice, krvi i ostalih telesnih tečnosti dobijeno je da bi uzročnici mogli biti anatoksin iz *Anabaena flos-aquae*, međutim zbog izvesnih nejasnoća ova dijagnoza je ostala bez relevantnih dokaza¹.

Dermalni kontakt sa cijanotoksinima se može ostvariti i tuširanjem neadekvatno tretiranom vodom iz sistema za vodosnabdevanje koja sadrži ćelije cijanobakterija i njihove toksine. Pod takvim okolnostima su prijavljene kožne promene u Novom Južnom Velsu¹. Poznato je da su aplaziatoksin, debromoaplaziatoksin, lingbiatoksin i lipopolisaharidni endotoksini, najčešći dermatotoksini koji deluju na kožu ljudi. Te supstance imaju i inflamatorni efekat a mogu delovati i kao promoteri tumora.

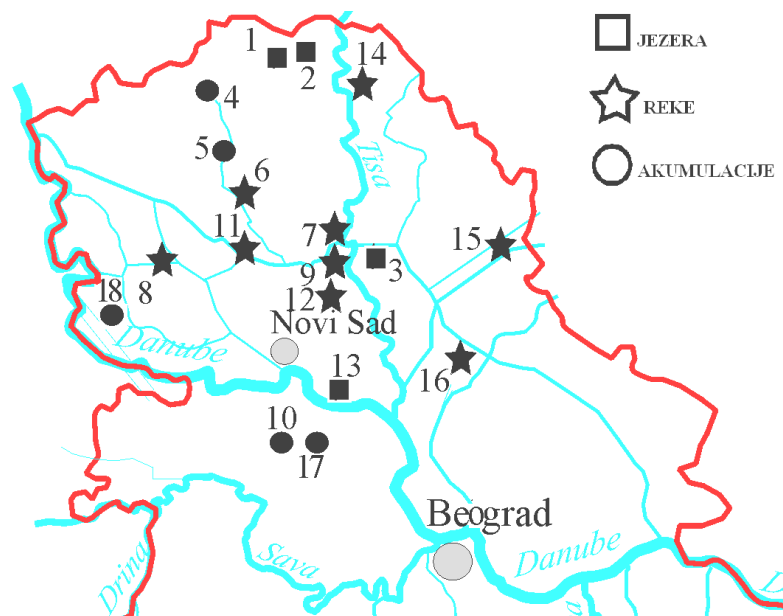
Tokom rekreacije, još jedan potencijalni put izlaganja je inhalacija. Disajne smetnje su se javile nakon inhalatornog izlaganja određenim morskim i slatkovodnim cijanobakterijama. Prijavljeni su i slučajevi pneumonije kod zdravih vojnika nakon vežbi, plivanja i vožnje kanua kada su došli u kontakt sa mikrocistinom poreklom od *Microcystis aeruginosa* iz Radjard jezera, Engleska. Pored toga vojnici su imali razne gastrointestinalne, dermatološke i respiratorne smetnje, kao što su astma, plikovi oko usta, iritacija očiju, visoka temperatura i hepatoenteritis¹. Ovaj incident pored dermalne uključuje i ekspoziciju putem inhalacije i ingestije. Zbog svega navedenog, potencijalno izlaganje cijanotoksinima inhalacijom ne bi

trebalo da se zanemaruje tokom kupanja, vodenih sportova (pogotovo skijanja na vodi) ili tokom poljoprivrednog ili industrijskog navodnjavanja.

Cijanobakterije se takođe pojavljuju i u pustinjama u formi pokorica. Nedavno su uzorci iz suvih, efemernih rečnih korita u Kataru analizirani na cijanotoksine, pri čemu su detektovane koncentracije mikrocistina između 1,5 ng/g i 53,7 ng/g u svim uzorcima. U slučaju inhalacije ovih količina cijanotoksina sa prašinom, dozvoljen dnevni unos, čija je vrednost za ovaj način ekspozicije izračunata u rangu od 1 do 2 ng mikrocistina po kg dnevno, bi bio prekoračen. Prisustvo mikrocistina i potencijalno anatoksin-a(S) u pustinjskim pokoricama može imati značajne implikacije za ljudsko zdravlje¹².

8.2.2. Iskustva iz Republike Srbije

Kada je reč o Srbiji postoji mali broj podataka koji se odnose na prisustvo cijanotoksina u površinskim vodama namenjenih za rekreaciju. Međutim, detaljnija istraživanja su sprovedena na području Vojvodine gde su u cilju detekcije prisustva mikrocistina izvršena istraživanja različitih površinskih voda koje se pretežno koriste za rekreaciju i navodnjavanje¹³. Uzorkovanje na odabranim lokalitetima u Vojvodini je rađeno sezonski (tokom februara - zimski aspekt, maja - prolećni aspekt, avgusta - letnji aspekt, oktobra - jesenji aspekt) u periodu od leta 2005. do jeseni 2007. godine na 18 lokaliteta (Slika 49).



Slika 49. Ispitivani vodeni ekosistemi Vojvodine u periodu od 2005. do 2007. godine
 Legenda: 1. Palić, 2. Ludoš, 3. MrtvaTisa - B. Gradište, 4. Tavankut, 5. Zobnatica, 6. Krivaja, 7. DTD - Bečej, 8. DTD - Srpski Miletić, 9. DTD - B. Gradište, 10. Borkovac, 11. DTD - Vrbas, 12. Jegrička, 13. Koviljski rit, 14. Tisa - N. Kneževac, 15. Begej - Srpski Itebej, 16. Tamiš - Botoš, 17. Provala, 18. Pavlovci

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

Istraživanja na području Vojvodine su obuhvatila različite tipove vodenih ekosistema: reke (Tisa, Tamiš, Jegrička, Begej, Krivaja), jezera (Palić – Slika 50, Ludoš, Mrtva Tisa, Koviljski rit, Provala), akumulacije (Borkovac, Pavlovac, Tavankut, Zobnatica) i kanalsku mrežu Dunav-Tisa-Dunav na više lokaliteta (Bečej, B. Gradište – Slika 50, Sr. Miletić, Vrbas, Koviljski rit) (Slika 49).

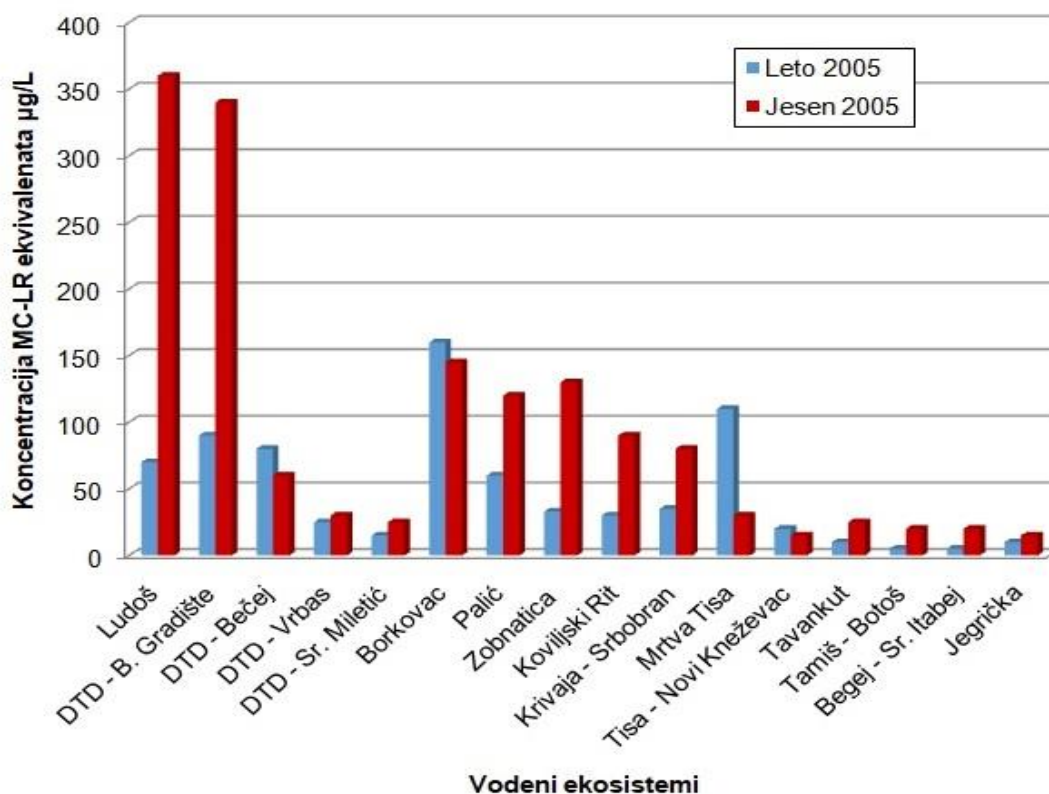


Slika 50. Cvetanje cijanobakterija u akumulaciji za rekreaciju: Palić kod Subotice, neposredno pored restoranskog objekta na vodi, leto 2020. godine (levo) i cvetanje cijanobakterija u hidrosistemu Dunav-Tisa-Dunav kod Bačkog Gradišta leto 2006. godine (desno)

Na Slici 51 su prikazani prvi zabeleženi rezultati koncentracije hepatotoksina - mikrocistina u površinskim vodenim ekosistemima na području Vojvodine. Detekcija mikrocistina rađena je metodom inhibicije enzima protein fosfataze 1 (PP1), pri čemu je koncentracija izražena kao koncentracija ekvivalenta MC-LR, jednog od najzastupljenijih varijanti mikrocistina u površinskim vodama širom sveta¹³.

Koncentracija mikrocistina zabeležena tokom letnjeg perioda 2005. na ispitivanim lokalitetima se kretala od 1,5 µg/L do 165 µg/L (Slika 51). Koncentracija mikrocistina manja od 2 µg/L zabeležena je na svega dva lokaliteta, Tamiš - Botoš i Begej - Sr. Itebej. Na 5 lokaliteta - Tavankut, DTD - Sr. Miletić, Tisa - N. Kneževac, DTD - Vrbas i Koviljski rit detektovana je koncentracija mikrocistina u granicama od 2-10 µg/L (opseg od 2-10 µg/L se smatra vrednostima potencijalnog zdravstvenog rizika u vodama za rekreaciju). Isti broj lokaliteta imao je koncentraciju mikrocistina u opsegu 10-100 µg/L (povećan zdravstveni rizik u vodama za rekreaciju) - Zobnatica, Jegrička, Krivaja, Palić, Ludoš i DTD – Bečej. Najveće koncentracije mikrocistina zabeležene su na lokalitetima DTD -

B.Gradište (104 µg/L), Mrtva Tisa (115 µg/L) i Borkovac (165 µg/L). Jesenji aspekt je u najvećoj meri karakterisalo povećanje koncentracije mikrocistina u ispitivanim ekosistemima. Detektovane koncentracije mikrocistina kretale su se od 5 µg/L na lokalitetu Tisa-N. Kneževac, pa do maksimalne 362 µg/L, koliko je zabeleženo u jezeru Ludoš. Posebno visoka koncentracija, izuzev jezera Ludoš, odlikovala je i lokalitete DTD - B.Gradište (346 µg/L), Borkovac (152 µg/L), Zobnaticu (121 µg/L) i jezero Palić (119 µg/L).



Slika 51. Koncentracija mikrocistina u vodenim ekosistemima Vojvodine tokom 2005. godine

Rezultati koncentracija mikrocistina detektovanih u vodenim ekosistemima tokom 2006. i 2007. godine pokazali su isti trend pojavljivanja mikrocistina sa neznatnim variranjima u zavisnosti od sezone. Tokom ovog dvogodišnjeg perioda ekstremne vrednosti su izmerene u uzorcima iz jezera Ludoš u letnjim mesecima (603 µg/L) i jezera Palić (389 µg/L). U većini vodenih ekosistema koncentracije mikrocistina koje su se kretale od 1 do 100 µg/L, što je tipično za površinske vode. Međutim, maksimalne vrednosti detektovane na pojedinim lokalitetima (jezera Palić i Ludoš, kanal DTD kod B. Gradišta, Mrtva Tisa) značajno prevazilaze pomenuti opseg.

Najveće detektovane koncentracije mikrocistina uvek su bile povezane sa pojavom masovne proliferacije cijanobakterija u vodi i nagomilavanjem površinskih naslaga biomase. U većini slučajeva radilo se o proliferaciji cijanobakterija iz rodu *Microcystis*,

Planktothrix i *Anabaena* koji su česti rodovi i u drugim ispitivanim površinskim vodama. Zbog toga se sva cijanobakterijska cvetanja u vodama Vojvodine moraju tretirati kao potencijalno toksična i opasna, što ukazuje na neophodnost uvođenja obaveznog monitoringa pojave cvetanja i cijanotoksina. S obzirom na postojanje zdravstvenog rizika u slučaju pojave toksičnog cvetanja cijanobakterija na području Vojvodine, neophodno je uvesti i zakonom regulisati dozvoljene koncentracije cijanotoksina po preporukama Svetske zdravstvene organizacije.

Osim detekcije intracelularne koncentracije mikrocistina, tokom trogodišnjeg perioda istraživanja, iz ispitivanih vodenih ekosistema Vojvodine izolovano je i uspešno iskultivisano 13 potencijalno toksičnih sojeva cijanobakterija. Izolovani sojevi pripadaju rodovima *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nostoc*, *Oscillatoria* i *Phormidium*. Svi izolovani sojevi su testirani u cilju ispitivanja njihove toksičnosti. Analiza intracelularnog sadržaja mikrocistina metodom inhibicije enzima protein fosfataze 1 (PP1) kod 13 sojeva cijanobakterija izolovanih iz vodenih ekosistema Vojvodine je pokazala da su svi izolovani sojevi toksični¹³.

8.3. Ishrana kontaminiranom ribom i ostalim vodenim organizmima

Postoje brojni podaci koji ukazuju na to da se cijanotoksini mogu akumulirati u tkivu različitih vodenih organizama koji se koriste u ljudskoj ishrani, kao što su rakovi, puževi, školjke i ribe. U slučaju akutnih trovanja, visoke doze toksina deluju letalno na vodene organizme. Međutim, kada su doze subletalne, životinje mogu da prežive, da akumuliraju toksine i prenose ih kroz lance ishrane.

Mikrocistini su detektovani u slatkovodnim račićima (*Palaemon modestus*, *Macrobrachium nipponensis*), slatkovodnim školjkama, kao i u hepatopankreasu, abdomenu, gonadama, škragama i stopalu slatkovodnog puža *Bellamyia aeruginosa*. Većina toksina se nalazi u nejestivim delovima ovog puža, što znači da uklanjanjem hepatopankreasa, digestivnog trakta i gonada pre konzumiranja može se smanjiti rizik od trovanja. Međutim, puževi se obično kuvaju celi, što pruža mogućnost za unošenje mikrocistina. Osim toga, treba naglasiti da kuvanje ne uništava većinu poznatih cijanotoksina. Cilindrospermopsin je detektovan i u mišićnom tkivu raka *Cherax quadricarinatus* kao i visceralnom tkivu ribe *Melanotaenia eachamensis* iz akvakultura. Vrsta školjke *Anodonta cygnea* može da akumulira mikrocistine u količini od 70-280 µg/jedinki, ukoliko se gaji u kulturi sa cijanobakterijom *Planktothrix agardhii*. Takođe je utvrđeno da se cilindrospermopsin kod iste vrste školjke akumulira najvećim delom u hemolimfi. U Baltičkom moru su ispitivanja

plavih školjki pokazala da one akumuliraju nodularin pri čemu je maksimalna koncentracija toksina iznosila 2 µg/kg, dok je kod riba koje su se hranile tim školjkama maksimalna koncentracija toksina nađena u jetri i iznosila je 399 µg/kg suve mase. Saksitoksini iz vrste *Anabaena circinalis* mogu se akumulirati u australijskoj slatkovodnoj školjki posle samo jedne nedelje izloženosti gustini od 100.000 ćelija/mL, koja se obično javlja tokom cvetanja ove vrste cijanobakterija. U marinskom ekosistemu, saksitoksin je detektovan u ostrigama (*Pinctada maxima*).

Budući da su na samom vrhu vodenog lanca ishrane, ribe su izložene cijanotoksinima prvenstveno preko hrane. Akumulacija mikrocistina dokazana je u mnogim organima riba, poput jetre, mišića, škrge, bubrega, creva, žučne kese, slezine, gonada, krvi i u mozgu, pri čemu različite vrste riba akumuliraju različite količine toksina u svojim organima. Najveće koncentracije su nađene u crevima *Hypophthalmichthys nobilis* (98 µg/g suve težine ribe), u crevima i jetri *Tilapia rendalli* (68 µg/g suve težine ribe i 31 µg/g suve težine ribe), dok su vrednosti u tkivima (mišićima, jetri, želucu i bubrezima) *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus* i *Carassius auratus* bile u granicama od 0,03 do 0,83 µg/g suve težine ribe¹⁴.

Akumulacija toksina u tkivima ribe zavisi od nekoliko faktora: trajanja ekspozicije, vrste toksina, tkiva, vrste i uhranjenosti ribe, kao i ponuđene dodatne hrane.

8.3.1. Stanje u svetu

U Grčkoj u jezeru Pamvotis gde je primećeno cvetanja rodova *Microcystis*, *Anabaena*, *Chroococcus*, *Oscillatoria*, *Ceratium*, *Asterionella*, *Melosira*, *Pediastrum*, *Synedra*, *Scenedesmus* i *Closterium* utvrđivana je akumulacija mikrocistina u tkivu i organima ribe *Carassius gibelio* (babuška) koja se koristi u ljudskoj ishrani. Koncentracije mikrocistina u vodi varirale su između 310 i 2.388 ng/L, a koncentracije ovog toksina tokom cvetanja u jezeru iznosile su između 3.109 i 11.585 ng/L. U uzorcima ribe *Carassius gibelio* iz ovog jezera detektovan je mikrocistin i najveće koncentracije su pronađene u jetri (275 ng/g), zatim crevima (233 ng/g), bubrezima (155 ng/g) i mozgu (38 ng/g). Najmanje koncentracije bile su u gonadama (21 ng/g) i mišićima (16 ng/g). Na osnovu vrednosti mikrocistina pronađenih u mišićima ribe dnevni unos toksina kod ljudi koji bi koristili ovu ribu u ishrani bi iznosio 0,096 µg/kg, što je duplo više od dozvoljenih dnevnih vrednosti (0,04 µg/kg čovekove težine).

U Španiji na jezeru Albufera vršeno je istraživanje pojave i distribucije mikrocistina u vodi i tkivima komercijalne ribe *Liza* sp. U jezeru je pronađena vrsta *Microcystis aeruginosa* i mikrocistini, pri čemu je maksimalna koncentracija mikrocistina iznosila je 16 µg/L. Svi uzorci ispitanog tkiva *Liza* sp. sadržali su mikrocistine. Najviše koncentracije toksina pronađene su u jetri (2,5 µg/g), zatim crevima (859 ng/g), škragama (49 ng/g) i mišićnom tkivu (5,2 ng/g). Uz to veće jedinke ove vrste imale su veće koncentracije mikrocistina u

jetri i crevima, a pronađeno je i oštećenje jetre kod nekih jedinki. U proseku, 200 tona *Liza* sp. se prodaje svake godine, koja je na osnovu dobijene srednje vrednosti mikrocistina, ekvivalentna količini od 350 mg mikrocistina (5 ng/g mišića ribe).

U ribnjacima Egipta vršeno je istraživanje akumulacije mikrocistina u različitim organima slatkovodne vrste ribe *Oreochromis niloticus*. U blizini ribnjaka nalazi se restoran koji poslužuje ribu iz ovih ribnjaka, u kojima svake godine dolazi do izraženog cvetanja vrste *Microcystis aeruginosa*. Distribucija mikrocistina u organima ribe ulovljene od strane ribara je znatno varirala. Najveće koncentracije su zabeležene u crevima (821 ng/g suve težine), zatim u jetri (531,8 ng/g) i bubrežima (400 ng/g) dok su manje količine detektovane u mišićima (102 ng/g). Prosečna porcija mesa ribe iznosi oko 100 do 200 g, što bi u ovom slučaju značilo da jedna porcija sadrži oko 10 µg mikrocistina, odnosno unos toksina u organizam je 5 puta veći od dozvoljenog dnevnog unosa u vodi za piće. Istraživanje pokazuje da koncentracije akumuliranog mikrocistina, iako nisu toksične za samu životinju, mogu biti opasne za ljude nakon konzumacije tkiva ove ribe.

U Brazilu na Funil i Furnas rezervoaru uzorkovane su dve vrste riba *Oreochromis niloticus* i *Tilapia rendalli*. Koncentracija mikrocistina u Funilu iznosila je 986 ng/L, a 941 ng/L u Furnasu. Od 27 riba uhvaćenih u oba rezervoara, 26% su imale vrednosti mikrocistina iznad dozvoljene doze. Uprkos činjenici da je vrednost mikrocistina u vodi bila ispod 1 µg/L, akumulirani mikrocistin u tkivima ribe dostizao je toksične nivoe, što predstavlja potencijalnu opasnost za potrošače. Koncentracije su se kretale od 0,8 do 32 µg/g u jetri i od 0,9 do 12 ng/g u mišićima riba. Vrsta *Tilapia rendalli* imala je niske koncentracije mikrocistina u jetri i mišićima u odnosu na *Oreochromis niloticus*, a bile su uhvaćene u istom rezervoaru i izložene istim koncentracijama toksina. Razlog ovih razlika u akumulaciji mikrocistina između fitoplanktivornih vrsta riba može biti usled razlika u ishrani ili razlike u metabolizmu mikrocistina. Uočeno je i da nema razlike u koncentraciji mikrocistina pronađenog u mišićima ženki i mužjaka ovih vrsta, što ukazuje da oba pola predstavljaju zdravstveni rizik pri konzumaciji. Interspecijske varijacije ukazuju da određene vrste riba mogu biti sigurnije za konzumaciju u odnosu na druge, što treba imati u vidu pri donošenju javnih zdravstvenih odrednica.

U Kini na jezeru Taihu gde dolazi do obimnog cvetanja cijanobakterija vršeno je istraživanje distribucije mikrocistina (MC-LR, MC-RR i MC-YR) u tkivima fitoplanktivornog belog tostolobika (*Hypophthalmichthys molitrix*) koji se koristi u ishrani. U jezeru dominira *Microcystis aeruginosa* i koncentracija intracelularnog mikrocistina u vodi je dostizala do 16 µg/L. Preko 20% uzorka tkiva mišića imalo je vrednosti toksina iznad dozvoljenih vrednosti. Na osnovu toga nije preporučena konzumacija mišića belog tostolobika iz ovog jezera tokom perioda cvetanja roda *Microcystis*.

Poredeći različite vodene organizme u Portugaliji, koji mogu da akumuliraju cijanotoksine, utvrđena maksimalna količina mikrocistina bila je 0,3 µg/g u ribama, 2,7 µg/g u rakovima i 16 µg/g u školjkama. Na osnovu dozvoljene maksimalne doze unosa kod ljudi (granična vrednost - GV je 0,04 µg/kg telesne mase čoveka) to znači da 100 gr porcije ribe može da sadrži 15 GV, porcija rakova može da sadrži 135 GV, a školjki 800 GV. Prema tome, konzumacija vodenih organizama sa akumuliranim cijanotoksinima može predstavljati potencijalnu opasnost po zdravlje ljudi kao akutno trovanje.

Do sada nema podataka o tome kako na ljudsko zdravlje deluje ingestija vodenih organizama sa akumuliranim toksinima nakon dužeg perioda konzumacije.

8.3.2. Iskustva iz Republike Srbije

Istraživanja cijanobakterija u ribnjacima Srbije su započela 1950. godine. U poslednje vreme sve veća zabrinutost u pogledu zdravstvenih efekata cijanotoksina na ribe i potencijalno na ljude, koji konzumiraju ribu sa toksinima, dovela je do povećanja broja studija na ribnjacima. Na teritoriji Vojvodine je istraženo preko 20 ribnjaka i u najvećem broju dolazi do masovnog razvoja cijanobakterija tokom letnjih i jesenjih meseci (Slika 52).

Istraživanja pokazuju da 100 gr mišića konzumne ribe može sadržati od 2,6 do 49,7 µg MC-LR ekvivalenata, što je oko 1,3 do 25 puta više od maksimalno dozvoljenog dnevnog unosa za odrasle osobe, propisanog od strane Svetske zdravstvene organizacije. Pored akumulacije, dokazan je i negativan uticaj mikrocistina i nodularina na ribe, pri čemu su razne patohistološke promene zabeležene u organima izloženih riba¹⁵. Iako mikrocistin i nodularin imaju prvenstveno hepatotoksične efekte, patohistološke promene su uočene i u drugim organima, što ukazuje na široki opseg dejstva ovih toksina. Zbog uočenih efekata na tkivo ribe i prisustva cijanotoksina u jestivim delovima riba, toksično cijanobakterijsko cvetanje u akvakulturama može značajno umanjiti kvalitet ribe i posredno tetno uticati na ljudsko zdravlje, životnu sredinu i ekonomiju.

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA



Slika 52. Cvetanje cijanobakterija u ribnjacima

8.4. Navodnjavanje i ishrana biljkama koje su zalivane cvetajućom vodom

Upotreba površinskih voda u kojima su prisutne toksične cijanobakterije i cijanotoksini tokom navodnjavanja može predstavljati potencijalnu opasnost po zdravlje ljudi na više načina. Direktno, tokom irigacije moguća je izloženost ljudi toksinima inhalacijom, što ima uticaj prvenstveno na nazalnu sluzokožu ili prskanjem čime toksini dolaze u direktan kontakt sa kožom. Navodnjavanje predstavlja i jedan od indirektnih načina izlaganja ljudi cijanotoksini. Mnoge terestrične biljke, uključujući i one koje čovek gaji u svrhu ishrane, mogu akumulirati pojedine vrste cijanotoksina u svojim tkivima. Usevi mogu da dođu u kontakt sa cijanotoksini kada se površinske vode koje sadrže cijanobakterije koriste za navodnjavanje, pri čemu mogu biti narušeni prinos i kvalitet biljnih kultura. Osim toga, ako akumulacija mikrocistina prelazi dozvoljene vrednosti, konzumacija ovakvih biljaka može predstavljati rizik za zdravlje ljudi i životinja.

Istraživanja su pokazala da cijanotoksini kod biljaka deluju u pravcu inhibicije procesa fotosinteze, inhibicije razvoja primarnih korenova i inhibicije rasta cele biljke, kao i pojave malformacija na različitim biljnim delovima. Takođe cilindrospermopsin, koji deluje kao inhibitor sinteze proteina, tokom irigacije može u većim koncentracijama negativno da utiče i na potentnost polena. Pokazano je da mikrocistini mogu da se translociraju iz korena u druge delove biljke. Osim toga postoji i mogućnost spoljašnje akumulacije cijanotoksina, jer navodnjavanje kontaminiranom vodom može dovesti do nakupljanja toksina na površini biljaka. Posebna opasnost postoji u slučaju onih biljaka kod kojih se konzumiraju nadzemni, listoliki delovi biljaka poput salate, španata i blitve.

Generalno, MC-LR inhibira PPI i PP2A kako sisara tako i biljaka. Pomenuti enzimi su uključeni u defosforilaciju regulatornih proteina koji kontrolišu mnoge ćelijske funkcije. Ova inhibicija fosfataza bi delimično mogla objasniti smanjenje diverziteta biljnih i životinjskih vrsta u vodama u kojima cvetaju toksične cijanobakterije. Prvi put je inhibicija primećena u rastu sadnica biljke *Sinapis alba*, kao efekat mikrocistina i ekstrakta toksičnih cijanobakterija. Pored toga, konstatovana je akumulacija cijanotoksina od strane ovih biljaka u listovima (5,3 µg/kg), plodovima, korenu i stabljici. Nakon ovog otkrića povećalo se interesovanje za fitotoksične efekte cijanobakterija na terestrične biljke, pri čemu su dobijeni brojni dokazi o morfološkim i fiziološkim promenama u raznim biljnim vrstama tretiranih cijanotoksini. Inhibicija rasta i akumulacija cijanotoksina je nađena i kod drugih biljnih vrsta, kao što su pasulj, grašak, sočivo, brokoli, krompir, repa, paprika, paradajz, kupus, rotkva, mirođija, peršun, šargarepa, zelena salata, ljulj, detelina, pšenica, ječam, kukuruz, pirinač i druge. Količine toksina otkrivene u biljnim ekstraktima su rasle sa vremenom ekspozicije. Efekti na rast biljaka su bili očigledniji pri prvoj berbi nego pri drugoj, što može da sugerise da su se biljke prilagodile na prisustvo toksina. Najveću

rezistentnost prema cijanotoksinima pokazale su biljke pirinča. Pirinač koji se uobičajeno gaji u vodi zajedno sa cijanobakterijama je verovatno evoluirao mehanizme koji sprečavaju usvajanje mikrocistina i čine biljke otpornijim na toksine cijanobakterija. Pored pirinča, otporne su i biljke sočiva.

Eksperimenti sa akumulacijom cijanotoksina u biljnoj masi za ishranu domaćih životinja su podstakli razmišljanja o mogućem štetnom uticaju cijanotoksina u stočarstvu. Ne postoje standardi za unos mikrocistina od strane domaćih životinja. Krava koja pase dnevno 15 kg suve mase sa pašnjaka, koji sadrži 20 % deteline, bi unela 3 kg deteline. Izmerena koncentracija mikrocistina u detelini bila je 0,21 mg/kg suve mase što ukazuje da bi krava mogla da konzumira 630 µg mikrocistina dnevno (1,26 µg/kg telesne težine dnevno za 500 kg težine životinje). To bi premašilo preporučenu dozvoljenu granicu za mikrocistin u vodi za piće za domaće životinje. Dakle, postoji mogućnost za prenos mikrocistina kroz lance ishrane do ljudi i životinja putem navodnjavanja vodom zagađenom sa ovim cijanotoksinima.

8.4.1. Stanje u svetu

U Saudijskoj Arabiji je otkriveno prisustvo mikrocistina u tkivima sedam povrtarskih biljaka navodnjvanih vodom iz podzemnih bunara. Kontaminacija podzemne vode sa cijanobakterijama se može javiti usled infiltracije iz obližnjih reka, jezera i bara, kao i putem padavina ili vetra i unošenjem cijanobakterijskih akineta u slabo osvetljene bunare. Kada dospeju do bunara podzemnih voda, u odgovarajućim uslovima cijanobakterije mogu da se prenamnože. Tako su u ovom slučaju cijanobakterije bile prisutne u podzemnim bunarima sa dominacijom vrste *Oscillatoria limnetica*, a u vodi su bili prisutni mikrocistini (0,3-1,8 µg/L), kao i u listovima i korenu svih povrtarskih biljaka sa farmi (0,07-1,2 µg/g suve mase). Koncentracije mikrocistina u biljkama su bile u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom toksina u vodi. Koncentracije mikrocistina su značajno varirale među povrtarskim biljkama. Najveća koncentracija toksina je zabeležena u rotkvi, a najniža u kupusu. Korenje je imalo više koncentracije toksina nego lišće, jedini izuzetak je bilo lišće mirođije. Korenje mirođije, rukole, zelene salate, peršuna i kupusa koji su akumulirali toksine se ne konzumiraju, međutim koreni rotkve koji su sadržali najveće koncentracije mikrocistina se koriste za ishranu ljudi. Na osnovu izmerenih vrednosti, koje se nalaze u jestivom lišću i korenju povrća (0,11-36 µg/g suve mase), 100 g porcije bi moglo sadržati od 11 do 36 µg mikrocistina, što je značajno više od dozvoljenih koncentracija za unos ovog toksina tokom jednog dana.

U Kini su izložili *in vitro* jabuku (*Malus pumila*) sirovom ekstraktu cvetajućih toksičnih cijanobakterija iz Dianchi jezera. Nakon izlaganja mikrocistinima iznad 0,3 µg/mL značajno je smanjen rast i širenje izdanaka jabuke. Nakon 14 dana izlaganja mikrocistinima 3 µg/mL,

izdanci jabuke su sadržali 510,23 ng MC-LR/g suve mase. Koncentracija mikrocistina u izdancima se povećavala sa vremenom ekspozicije i koncentracijom toksina.

8.4.2. Iskustva iz Republike Srbije

U Republici Srbiji su urađena detaljna trogodišnja istraživanja 18 lokaliteta koji pripadaju vodenim ekosistemima za rekreaciju i navodnjavanje na području Vojvodine: reke (Tisa, Tamiš, Jegrička, Begej, Krivaja), jezera (Palić, Ludoš, Mrtva Tisa, Koviljski rit, Provala), akumulacije (Borkovac, Pavlovci, Tavankut, Zobnatica) i kanalska mreža Dunav-Tisa-Dunav na više lokaliteta (Bečej, B. Gradište, Sr. Miletić, Vrbas, Koviljski rit). Ova istraživanja su urađena u cilju detekcije prisustva mikrocistina u vodi i predviđanja eventualnih rizika po zdravlje ljudi u direktnom kontaktu sa vodom tokom rekreativnih aktivnosti ili putem lanaca ishrane usled akumulacije cijanotoksina nakon zalivanja sa kontaminiranom vodom¹³. Kako se radi o istim vodenim ekosistemima, rezultati sa diskusijom su prikazani u potpoglavlju 8.2.2.

8.5. Cijanobakterijski dijetetski suplementi

Potencijalni rizik usled konzumiranja nutritivnih produkata na bazi cijanobakterija i mikroalgi je godinama bio zanemaran. Takvi produkti su česti na tržištu gde se reklamiraju i distribuiraju kao zdrava hrana, zbog čega se u velikoj meri konzumiraju širom sveta, naročito u SAD-u, Kanadi, Kini, Japanu i Evropi. Oni se uzimaju zbog svojih korisnih efekata po zdravlje ljudi poput detoksikacije, gubitka telesne težine, poboljšanja raspoloženja, podizanja energije i povećane budnosti¹⁶. Osim toga, neki od ovih proizvoda se koriste kao alternativna terapija za smanjenje pažnje usled hiperaktivnosti kod dece. Međutim, paradoksalno, mnogi od tih produkata mogu da sadrže i biomasu nekih cijanobakterija, poput *Aphanizomenon flos-aquae*, koje su potencijalni producenti toksičnih supstanci, tako da i ovi preparati mogu sadržati značajne količine cijanotoksina¹⁶.

Cijanobakterijski suplementi u obliku pilula, kapsula i praškova se mogu konzumirati bez lekarske konsultacije. Pošto su ovi proizvodi prirodni, pretpostavlja se da su ujedno i bezbedni, te se stoga uzimaju u visokim dozama i tokom dužeg vremenskog perioda. Međutim, ovo može imati negativne posledice po zdravlje, uključujući simptome kao što su vrtoglavica, mučnina, povraćanje i dijareja. Iako se gastrointestinalni poremećaji mogu dovesti u vezu sa konzumacijom ovih suplemenata, obično se oni pripisuju željenoj "detoksikaciji" organizma. Takođe, brojni negativni efekti mogu proći neprimećeni ili mogu biti pripisani drugim uzročnicima. Međutim, pomenute posledice mogu biti rezultat prisustva cijanotoksina u suplementima pravljenim na bazi biomase cijanobakterija. Uprkos opštem mišljenju da spirulina nije toksična, anatoksini su identifikovani u suplementima na bazi spiruline. Utvrđeno je da *Spirulina fusiformis* može da proizvede niske koncentracije

mikrocistina i anatoksin-a¹⁷. Takođe, *Aphanizomenon flos-aquae*, koji se koristi kao suplement, može da proizvodi anatoksin-a i saksitoksin¹⁶. Ova vrsta se generalno gaji u prirodnim jezerima, gde može da koegzistira sa drugim cijanobakterijama kao što je i *Microcystis* sp., što podrazumeva da potrošači suplemenata mogu biti izloženi mikrocistinima i drugim toksinima proizvedenim od strane pratećih cijanobakterija.

8.5.1. Stanje u svetu

Unos cijanobakterija na ovaj način je dobrovoljan, putem dodataka u ishrani pravljenih na bazi cijanobakterija i to najčešće iz rodova *Spirulina*, *Nostoc*, kao i *Aphanizomenon*, koji su uglavnom poznati po svom bogatom sadržaju proteina i vitamina. Cijanobakterije i alge u nekim delovima sveta već hiljadama godina predstavljaju izvor hrane i lekova. Nekada Asteci, a danas brojna plemena na severu Afrike, gaje cijanobakterije (spirulinu) u jezerima i od njih prave hleb i kolače. Najdužu tradiciju u konzumaciji biomase cijanobakterija ima Kina, gde se kao hrana koristi *Nostoc* i to već dve hiljade godina. Eksploatacija preparata od biomase cijanobakterija u zapadnim zemljama počinje 70-tih godina prošlog veka i to u vidu dodataka ishrani koji se uglavnom proizvode od biomase *Aphanizomenon flos-aquae* i *Spirulina* spp., a najčešće se gaje u prirodnim jezerima u Africi, Kaliforniji, Havajima, Tajlandu, Kini, Tajvanu i Indiji¹⁶.

Nezavisna ispitivanja koncentracije mikrocistina u suplementima na tržištu Amerike, Kanade, Nemačke i Švajcarske su i dokazala prisustvo cijanotoksina u suplementima na bazi cijanobakterija. Za većinu tih suplemenata utvrđeno je da sadrže mikrocistine u koncentracijama većim od dozvoljenih (1 µg/g)¹⁷. Tako su u Americi sprovedena ispitivanja prisustva mikrocistina u suplementima na bazi cijanobakterija, pri čemu su mikrocistini detektovani u 85 od 87 testiranih uzoraka. Za većinu tih suplemenata koji su se distribuirali na području Severne Amerike nakon ispitivanja je pronađeno da sadrže mikrocistine u koncentraciji većoj od 35 µg/g, a čak za 72% uzoraka bio je utvrđen sadržaj mikrocistina veći od 1 µg/g. Maksimalni dozvoljeni dnevni unos toksina MC-LR, koji iznosi 0,04 µg/kg telesne mase, se lako može preći konzumacijom kontaminiranih suplemenata hrane. Međutim, potrebno je naglasiti da ne sadrže svi suplementi visoke koncentracije mikrocistina, kao i da različite serije nekog proizvoda mogu da sadrže različite koncentracije mikrocistina ili nekih drugih toksičnih jedinjenja.

8.5.2. Iskustva iz Republike Srbije

Prisustvo mikrocistina detektovano je u suplementima sa tržišta Republike Srbije³. Analiza 8 različitih proizvoda odnosno suplemenata na bazi mikroalgi i cijanobakterija, distribuiranih na tržištu u Srbiji, je pokazala da se u pojedinim uzorcima nalazi hepatotoksin, MC-LR. Koncentracije MC-LR su se kretale od 0,5 µg/g do 4,2 µg/g. Toksin nije detektovan u 40 % testiranih proizvoda.

Prema navedenom, maksimalni dozvoljeni dnevni unos za MC-LR se lako može prekoračiti konzumacijom kontaminiranih cijanobakterijskih suplemenata u ishrani. Iz tog razloga je neophodno da se cijanobakterijske vrste i sojevi koji se sa ovim ciljem masovno gaje selektuju na bazi odsustva produkcije cijanotoksina nakon brojnih biotestova ili odsustva gena za produkciju cijanotoksina. Pored toga, neophodan je monitoring i kvalitetna strožija kontrola biomase namenjene za dobijanje dodataka u ishrani, kao i samih proizvoda, a sve u cilju zaštite potrošača.

8.6. Specijalni načini ekspozicije u klinikama za dijalizu

Specifičan vid moguće izloženosti ljudi cijanotoksinima predstavljaju i određeni postupci u lečenju ljudi, kao što su dijaliza i infuzija. Bubrežni bolesnici su u velikoj opasnosti ukoliko se za dijalizu koristi voda koja sadrži cijanotoksine. U slučaju takvih pacijenata neophodna je velika količina vode za dijalizu, oko 120 litara, tako da taj način izlaganja toksinima koji je sličan intravenoznom izlaganju, omogućava mnogo veće usvajanje toksina nego što se unese tokom ingestije.

8.6.1. Stanje u svetu

Prvi dokumentovani smrtni ishodi usled kontakta sa cijanotoksinima preko hemodijalize dogodili su se u klinici za dijalizu u gradu Karuaru, Brazil tokom 1996. godine¹⁸. U februaru 1996. godine nakon rutinske hemodijalize od 131 pacijenta, 116 (89 %) požalili su se na glavobolju, bolove u očima, poremećaje vida, mučninu, povraćanje i slabost mišića. Kasnije je kod 100 bolesnika došlo i do akutnog prestanaka rada jetre. Od decembra 1996. godine, 52 naknadna smrtna slučaja mogu biti pripisana sindromu nazvanom "Karuaru sindrom". Uzroci opisanog sindroma su ubrzo pronađeni u vodi od koje je pripremana fiziološka tečnost za dijalizu. Klinika je tokom leta 1996. godine za dijalizu koristila neadekvatno tretiranu vodu¹⁸. Na osnovu pređašnjih znanja o pojavi cijanobakterija u Brazilu, o hemijskoj stabilnosti hepatotoksina, kao i sličnosti sa simptomima opisanih kod pacijenata sa onim uočenim kod eksperimentalnih životinja, došlo se do pretpostavke da bi za ove intoksikacije mogli biti odgovorni cijanotoksini. Na osnovu ove hipoteze izvršeno je ispitivanje fitoplanktona u vodi rezervoara koji snabdeva kliniku, zatim analiza cijanotoksina u vodnom sistemu klinike, kao i analiza tkiva jetre pacijenata. Analize fitoplanktona u rezervoaru su pokazale da od 1990. godine cijanobakterije dominiraju u vodi i predstavljale su 99 % od ukupne fitoplanktonske zajednice. Najčešća cijanobakterijska vrsta bila je *Aphanizomenon manguinii*, kao i dve vrste *Oscillatoria*, dok su prateći cijanobakterijski rodovi bili: *Microcystis*, *Anabaena* i *Cylindrospermopsis*, takođe potencijalni producenti cijanotoksina. Na osnovu analiza vode, seruma i tkiva jetre pacijenata, identifikovana su dva hepatotoksična cijanotoksina: mikrocistini u svim uzorcima i cilindrospermopsin u sistemu za prečišćavanje vode u lokalnom rezervoaru.

Histopatološki pregled tkiva jetre 16 žrtava je pokazao uniformnost oštećenja jetre, deformiteta ćelija, nekroze, apoptoze i citoplazmatične vakuolizacije. Ova histopatološka slika je bila veoma slična dobijenoj kod eksperimentalnih životinja tretiranim mikrocistinima. Na osnovu ovih bioloških i hemijskih dokaza se moglo zaključiti da su mikrocistini (MC-YR, MC-LR i MC-AR) iz vode glavni uzrok smrti pacijenata sa hemodijalize u Brazilu. Cijanobakterije i cijanotoksini su 2000. godine uvedeni u Brazilsku legislativu u vezi sa kvalitetom vode za piće.

Direktiva Svetske zdravstvene organizacije koja se odnosi na vodu za piće ne razmatra posebno kvalitet vode koji je potreban za dijalizu, intravenoznu terapiju ili za druge kliničke potrebe. Tretmani koji se konvencionlano koriste u pripremi vode za piće su efikasni u uklanjanju cijanobakterijskih ćelija, ali nisu dovoljno efikasni u eliminaciji cijanotoksina. Zbog toga klinike i bolnice sa posebnim potrebama za vodom dobrog kvaliteta, kao što je dijaliza ili infuzija, mogu uvesti dodatne tretmane za eliminaciju toksina

8.6.2. Iskustva iz Republike Srbije

U jednokratnom testiranju uzoraka vode u jednom gradu u Srbiji koji se snabdeva vodom iz cvetajuće akumulacije, nakon primene redovnih tretmana prerade, konstatovano je prisustvo cijanotoksina MC-LR u finalnoj vodi pri čemu se koncentracija toksina kretala od 0,2-0,3 ng/L. U destilovanoj vodi, koja je dobijena iz takve finalne vode, takođe je zabeleženo prisustvo MC-LR u nešto nižim koncentracijama (od 0,1 ng/L), što ukazuje na potencijalnu opasnost u slučaju korišćenja takve vode u svrhe dijalize i infuzije.

Putevi i načini ekspozicije ljudi cijanotoksinima su:

- 1. akutno i hronično unošenje putem kontaminirane vode za piće;**
- 2. gutanje vode, inhalacija kapljica i kontakt sa nazalnim i ostalim mukoznim membranama tokom rekreativnih aktivnosti;**
- 3. dermalni kontakt tokom plivanja, skijanja na vodi, veslanja i drugih aktivnosti vezanih za cvetajuću vodu;**
- 4. ishrana kontaminiranom ribom i plodovima mora;**
- 5. cijanobakterijski suplementi;**
- 6. navodnjavanje može dovesti do nagomilavanja toksina u i na jestivim delovima biljaka;**
- 7. specijalni načini ekspozicije u klinikama za dijalizu.**

Simptomi i zdravstveni rizici izloženosti cijanotoksinima su u velikoj zavisnosti od načina i vremena ekspozicije. Uticaj na zdravlje ljudi se ispoljava kao:

- svrab, osip, astmatični napadi, iritacija sluzokože i kože očiju, nosa, grla, ušiju i kože nakon direktnog kontakta sa cijanotoksinima tokom rekreativnih aktivnosti kao što su plivanje i skijanje na vodi;
- ako se toksini progutaju, prouzrokuju opštu slabost, anoreksiju, crvenilo mukoznih membrana, gastroenteritis, mučninu, povraćanje, dijareju, abdominalne bolove, hladne ekstremitete, konvulzije, groznicu, slabost mišića, poremećaj vida, glavobolje, grčeve, vrtoglavicu, podrhtavanje mišića, utrnulost usana i mišića, peckanje vrhova prstiju na rukama i nogama, osećaj nedostatka vazduha, cijanozu, savijanje vrata unazad, nesvesticu, paralizu i respiratorni ili kardijalni zastoj, smrt;
- tumorska promocija i karcinogeneza.

Epidemiološka proučavanja u Kini su pokazala da je MC-LR jedan od rizičnih faktora u nastanku primarnog kancera jetre. Visoke incidence ovog kancera su se poklapale sa prisustvom mikrocistina u vodi u regionima gde su nađeni aflatoksini u hrani i povećana incidenca hepatitisa (virus B). Istraživanja u Srbiji su pokazala da postoji značajna veza između cijanobakterijskog cvetanja u akumulacijama za vodosnabdevanje i povećane incidence primarnog kancera jetre u centralnoj Srbiji. Postoji opravdana sumnja da dugogodišnja hronična ekspozicija u kombinaciji sa visokim i/ili niskim dozama može dovesti do tumorske inicijacije i promocije. Povećanje incidence i nekih drugih kancera u pomenutim regionima, kao što su melanom, kancer debelog creva i rektuma, peritoneuma i retroperitoneuma ukazuju na neophodnost uvođenja posebnog opreza u sagledavanju zdravstvenih rizika koji mogu biti uzrokovani cvetanjem cijanobakterija.

Do kožnog kontakta sa cijanobakterijama i njihovim toksinima može doći tokom boravka na vodama za rekreaciju u kojima se javlja cijanobakterijsko cvetanje. Formirajući na površini vode slojeve biomase, cijanobakterije predstavljaju opasnost za plivače tokom aktivnosti u vodi i nakon izlaska iz nje jer se cijanobakterije zadržavaju na koži i odeći za kupanje. U tim slučajevima se mogu javiti dermalne iritacije i alergijske reakcije koje se prepoznaju kao: dermatitis, plivački svrab, osip na koži, konjuktivitis, iritacija očiju, zapaljenje uha, ranice u ustima, jake glavobolje, vrtoglavica, groznica, mijalgija, suv kašalj, astma, upala pluća, duboka deskvamacija kože i kancer kože, zatim povraćanje i drugi gastrointestinalni simptomi.

Cijanotoksini se mogu akumulirati u tkivu različitih vodenih organizama koji se koriste u ljudskoj ishrani, kao što su rakovi, puževi, školjke i ribe. U slučaju akutnih trovanja, visoke doze toksina deluju letalno na vodene organizme. Međutim, kada su doze subletalne, životinje mogu da prežive, akumuliraju toksine i prenose ih kroz lance ishrane. Zbog uočenih efekata na tkivo ribe i prisustva cijanotoksina u jestivim delovima riba, toksično cijanobakterijsko cvetanje u akvakulturama može značajno

umanjiti kvalitet ribe i posredno štetno uticati na ljudsko zdravlje, životnu sredinu i ekonomiju.

Navodnjavanje poljoprivrednih kultura vodom koja je kontaminirana cijanotoksinima ima negativne biohemijske efekte na metabolizam izloženih biljaka i time utiče na kvalitet poljoprivrednih kultura. Biljke mogu da akumuliraju cijanotoksine i potencijalno ih prenose do životinja i ljudi u koncentracijama koje mogu biti opasne po zdravlje konzumenata.

Dozvoljeni dnevni unos mikrocistina (0,04 µg/kg telesne mase potrošača) se lako može prekoračiti konzumacijom kontaminiranih cijanobakterijskih suplemenata u ishrani. Iz tog razloga je neophodno da se cijanobakterijske vrste i sojevi koji se sa ovim ciljem masovno gaje selektuju na bazi odsustva produkcije cijanotoksina nakon brojnih biotestova ili odsustva gena za produkciju cijanotoksina. Pored toga, neophodan je monitoring i strožija kontrola biomase namenjene za dobijanje dodataka u ishrani, kao i samih proizvoda, a sve u cilju zaštite potrošača.

Specifičan vid moguće izloženosti ljudi cijanotoksinima predstavljaju i određeni postupci u lečenju ljudi, kao što su dijaliza i infuzija. Bubrežni bolesnici su u velikoj opasnosti ukoliko se za dijalizu koristi voda koja sadrži cijanotoksine. Takav način izlaganja toksinima je sličan intravenoznom i omogućava mnogo veće usvajanje toksina nego što se unese tokom ingestije.

Literatura:

1. Svirčev Z., Lalić D., Bojadžija Savić G., Tokodi N., Drobac Backović D., Chen L., Meriluoto J., Codd G.A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of Toxicology*:1-53.
2. Codd G.A., Bell S., Brooks P. (1989): Cyanobacterial toxins in water. *Wat. Sci. Technol.* 21:1-13.
3. Drobac D. (2015): Putevi izloženosti čoveka cijanotoksinima i njihov uticaj na zdravlje. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
4. Svirčev Z., i saradnici (2016a): Lessons from the Užice case: how to complement analytical data. In: *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* (J. Meriluoto, L. Spoof & G.A. Codd, Eds.), Chichester: Wiley, pp. 298-308.
5. Svirčev Z. i saradnici (2016b): Massive fish mortality and *Cylindrospermopsis raciborskii* bloom in Aleksandrovac Lake. *Ecotoxicology*, 25: 1353-1363

8. PUTEVI IZLOŽENOSTI LJUDI CIJANOTOKSINIMA

6. Natić D., Jovanović D., Knežević T., Karadžić V., Bulat Z., Matović V. (2012): Microcystin-LR in surface water of Ponjavica River. *Vojnosanitetski Pregled*. 69:753-758.
7. Svirčev Z. i saradnici (2014): Epidemiology of cancers in Serbia and possible connection with cyanobacterial blooms. *J. Environ. Sci. Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 32(4):319-337.
8. Svirčev Z., Drobac D., Tokodi N., Mijović B., Codd G.A., Meriluoto J. (2017): Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins – *Archives of Toxicology* 91(2): 621–650.
9. Svirčev Z., Simeunović J., Subakov-Simić G., Krstić S., Vidović M. (2007): Freshwater cyanobacterial blooms and cyanotoxin production in Serbia in the past 25 years. *Geographica Pannonica*, 11: 32-38.
10. Svirčev Z., Krstić S., Miladinov-Mikov M., Baltić V., Vidović M. (2009): Freshwater Cyanobacterial Blooms and Primary Liver Cancer Epidemiological Studies in Serbia (Review). *Journal of Environmental Science and Health. Part C-Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 27(1): 36-55.
11. Svetska Zdravstvena Organizacija, SZO. (2003): Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Vol 1: Coastal and fresh waters. WHO, Geneva.
12. Metcalf J.S., Richer R., Cox P.A., Codd G.A. (2012): Cyanotoxins in desert environments may present a risk to human health. *Sci. Total. Environ*. 421-422:118-123.
13. Simeunović J. (2009): Ekofiziološke karakteristike potencijalno toksičnih i toksičnih vodenih sojeva cijanobakterija na području Vojvodine. Doktorska disertacija. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
14. Adamovsky O. i saradnici (2007): Microcystin kinetics (bioaccumulation, elimination) and biochemical responses in common carp and silver carp exposed to toxic cyanobacterial blooms. *Environ. Toxicol. & Chem*. 26:2687-2693.
15. Svirčev Z., Lujčić J., Marinović Z., Drobac D., Tokodi N., Stojiljković B., Meriluoto J. (2015): Toxicopathology induced by microcystins and nodularin: A histopathological review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 33(2): 125-167.
16. Carmichael W.W., Drapeau C., Anderson D.M. (2000): Harvesting of *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Born. and Flah. var. *flos-aquae* (Cyanobacteria) from Klamath Lake for human dietary use. *J. Appl. Phycol*. 12:585-595.
17. Draisci R., Ferretti E., Palleschi L., Marchiafava C. (2001): Identification of anatoxins in blue-green algae food supplements using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food. Addit. Contam*. 18:525-531.
18. Jochimsen E.M. i saradnici (1998): Liver failure and death following exposure to microcystin toxins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med*. 338(13):873-879.

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRAVSTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

9.1. Metode detekcije cijanotoksina

Razvijen je veliki broj metoda pomoću kojih je moguće detektovati različite grupe cijanotoksina u različitim tipovima uzoraka. One mogu biti visoko sofisticirane analitičke tehnike ali i jednostavne metode za skrining bioloških uzoraka. Kada se bira analitička metoda, treba da se vodi računa i o troškovima, osetljivosti i specifičnosti metode. Pored toga, često se dešava da u jednom uzorku postoji više predstavnika cijanobakterija i mešavina njihovih toksina, ali i toksičnih jedinjenja koja mogu biti poreklom i od drugih organizama, što može uticati na rezultate detekcije.

9.1.1. Biološki testovi

Za detekciju prisustva cijanotoksina u uzorku mogu se primeniti adekvatni biološki testovi sa bakterijama, algama, račićima artemijom i dafnijama, sitnim beskičmenjacima (protozoa, rotifera, kladocere i kopepode), komarcima i voćnim mušicama koje se hrane cijanobakterijama, sa rakovima, anelidama, zatim larvama i neonatama riba, sa miševima, ćelijama sisara i drugim test organizmima. Zbog etičkih razloga, u novije vreme koriste se kultivisane ćelijske linije sisara i riba umesto životinjskih biotestova. Koriste se i neke vrste biljaka, ali ih je potrebno bolje istražiti.

Biološki testovi sa račićem *Daphnia* sp.

Primena račića *Daphnia* kao test organizma u utvrđivanju toksičnosti pogodna je jer zahteva malu količinu uzorka, metoda nije skupa, posmatrani efekat može brzo da se detektuje, pol i starost ne utiču na rezultate jer se koriste isključivo neonate starosti do 24h, visoka je osetljivost i kontrolne jedinke uspešno preživljavaju. Dafnija kao test organizam pokazao se osetljivim na različite cijanotoksine, a efekti se razlikuju u zavisnosti od vrste toksina koji je prisutan. Ispitivanje prisustva cijanotoksina može da se vrši posmatranjem pokretljivosti i mortaliteta test jedinki, kao i inhibicijom ishrane. Ukoliko se testiraju uzorci iz slatkovodnih ekosistema, dafnije predstavljaju bolji izbor za detekciju cijanotoksina u odnosu na marinske račiće kao što je artemija. Nedostaci ove metode su održavanje kultura *Daphnia* koja zahteva intenzivan rad, a poznati su problemi i sa standardizacijom testova. Takođe, ovi organizmi mogu reagovati i na druge prisutne toksine u testiranom uzorku.

Biološki testovi sa račićem *Artemia salina*

Račići, a pogotovo larve račića *Artemia salina*, mogu da budu dobri indikatori uticaja toksičnih cijanobakterija i zbog toga su često korišćeni. Toksični nivoi toksina, između 1 i 10 µg/ mL, mogu biti identifikovani koristeći ovaj test organizam. Test toksičnosti sa račićem *A. salina* je jednostavan, nije skup i ne zahteva dodatnu opremu ili aseptične uslove. Iako se koristi kao validan metod u detekciji cijanotoksina, moguće je da *A. salina* reaguje na razna jedinjenja koja produkuju cijanobakterije i koja se mogu naći u uzorku, zbog čega su potrebna dodatna istraživanja drugih toksina cijanobakterija i inhibitora proteaza na smrtnost u testu toksičnosti *A. salina* pre nego što bude univerzalno prihvaćen.

9.1.2. Biohemijske metode

Enzimski imuno-vezujući test

Veoma osetljiv komercijalni test za detekciju cijanotoksina je enzimski imuno-vezujući test (ELISA)¹. ELISA je dizajnirana tako da se koristi direktno, bez koncentrovanja uzoraka vode, uz niske granice detekcije pomoću kojih se utvrđuje da li je granična vrednost od strane SZO prekoračena.

ELISA test može da preceni ili podceni koncentraciju nekih varijanta mikrocistina, a sa druge strane, veoma je koristan metod za inicijalni skrining prisustva određenih grupa toksina. Da bi se sa sigurnošću identifikovala pojedinačna hemijska jedinjenja potrebno je upotrebiti još neku dodatnu fizičko-hemijsku metodu. S obzirom na to da se detekcija ELISA testom zasniva na molekularnom prepoznavanju, a ne toksičnosti, različite varijante toksina daju različite odgovore koji ne pružaju informaciju o njihovoj toksičnosti. Ukoliko u uzorku postoji samo MC-LR ili neka varijanta sa sličnom kros reaktivnošću (*cross-reactivity*), mogu se dobiti veoma tačni rezultati. Ukoliko se koriste antitela MC-LR, rezultati treba da se tumače kao MC-LR ekvivalenti. Ovaj test je najpouzdaniji kada se radi analiza prisustva cijanotoksina u vodenim uzorcima. Nepoželjni uticaji matriksa različitih biljnih i životinjskih tkiva mogu biti znatni pri detekciji toksina. Stoga, uticaj matriksa treba istražiti pomoću kontrola i spajking studija pre nego što se donese zaključak o nivoima toksina. ELISA testovi koje proizvode različite kompanije daju i različite rezultate. Međutim, kada se uporedi sa potrebnim vremenom testiranja, osetljivosti i troškovima drugih bioloških, fizičko-hemijskih i biohemijskih metoda, ELISA je moćan metod za determinaciju prisustva i koncentracije nekih cijanotoksina u različitim prirodnim i laboratorijskim uzorcima. Stoga, pomoću ELISA testa moguće je veoma brzo dobiti rezultate velikog broja uzoraka i tako eliminisati uzorke koji su negativni iz daljih analiza i omogućiti efikasnu upotrebu ostalih laboratorijskih resursa.

Esej inhibicije enzima protein fosfataze 1

Esej inhibicije enzima protein fosfataze 1 (PPI) za mikrocistine zasniva se na inhibiciji aktivnosti katalitičkih subjednica serin/treonin PP1 i PP2A². Protein fosfataze defosforilišu proteine izdvajajući fosfatnu grupu od proteina. Inhibicijom ovih fosfataza, fosforilisano stanje proteina se povećava, što je cilj detekcije ove metode. Mikrocistin inhibiše aktivnost PP1 i PP2A u zavisnosti od doze. Različite varijante mikrocistina imaju afinitete za različite protein fosfataze. Inhibicija protein fosfataza nije direktno povezana sa akutnom toksičnošću. Esej se ne preporučuje za kompleksne analize tkiva jer postoji mogućnost interferencije matriksa sa aktivnošću protein fosfataza, kao i maskiranje inhibitornih efekata mikrocistina od strane endogene aktivnosti fosfataza iz uzorka. Iako su eseji sa enzimima prilično specifični, inhibicija protein fosfataza nije specifična samo za mikrocistine. Na primer anabenoceptini, produkovani od strane mikrocistin produkujućih rodova, su takođe inhibitori protein fosfataza. Eseji sa enzimima koriste se za merenje aktivnosti enzima odnosno nivoa inhibicije aktivnosti pod uticajem toksina.

U esejima za detekciju mikrocistina, PP1 ili PP2A enzim se koristi kao targetni enzim, a kao supstrat dodaje se paranitrofenilfosfat. Korišćenje supstrata ili stvaranje proizvoda (paranitrofenol) meri se u zavisnosti od vremena ili kontinualno tokom eksperimenta. Postavkom eseja u mikrotitar pločama moguće je analizirati veći broj uzoraka odjednom, a detekciju je moguće raditi spekrofotometrijski, fluorimetrijski, luminometrijski i radiometrijski.

ELISA i PP1 esej su grupno selektivne metode i samim tim ne mogu da razlikuju i kvantifikuju različite varijante mikrocistina. Štaviše, odgovor različitih varijanti toksina može značajno da varira i unakrsna reaktivnost unutar matriksa može da dovede do lažno pozitivnih rezultata ili da maskira detekciju toksina.

9.1.3. Fizičko-hemijske metode

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu cijanobakterijskih toksina koriste se i fizičko-hemijske metode. S obzirom da su koncentracije cijanotoksina veoma male, a uzevši u obzir i složenost biološkog materijala, često je neophodno izdvajanje, odnosno ekstrakcija toksina iz uzorka, kao i njegovo prečišćavanje. Jedna od metoda koja se koristi je tečna hromatografija pod visokim pritiskom koja izdvaja jedinjenja na osnovu njihove interakcije i fizičko-hemijskih preferencija između stacionarne i mobilne faze. Primenom ovakvih metoda ne mogu se odrediti toksični efekti analiziranog uzorka, a zahtevaju posebnu i često vrlo zahtevnu pripremu uzoraka, adekvatnu opremu i stručni kadar, što usporava i otežava proces detekcije cijanotoksina.

Najčešće primenjivana fizičko-hemijska metoda je tečna hromatografija-masena spektrometrija, koja predstavlja veoma moćnu analitičku metodu. Zasniva se na izdvajanju

jedinjenja na osnovu njihovih fizičko-hemijskih karakteristika. Može da se primenjuje kao hemijska analiza malih molekula do različitih tipova bioloških makromolekula. Tečnom hromatografijom-masenom spektrometrijom moguće je kvantifikovati različite vrste toksina iz različitih klasa toksina u jednoj analizi. Ekstrakcija i prečišćavanje mikrocistina radi se po standardnoj metodi³.

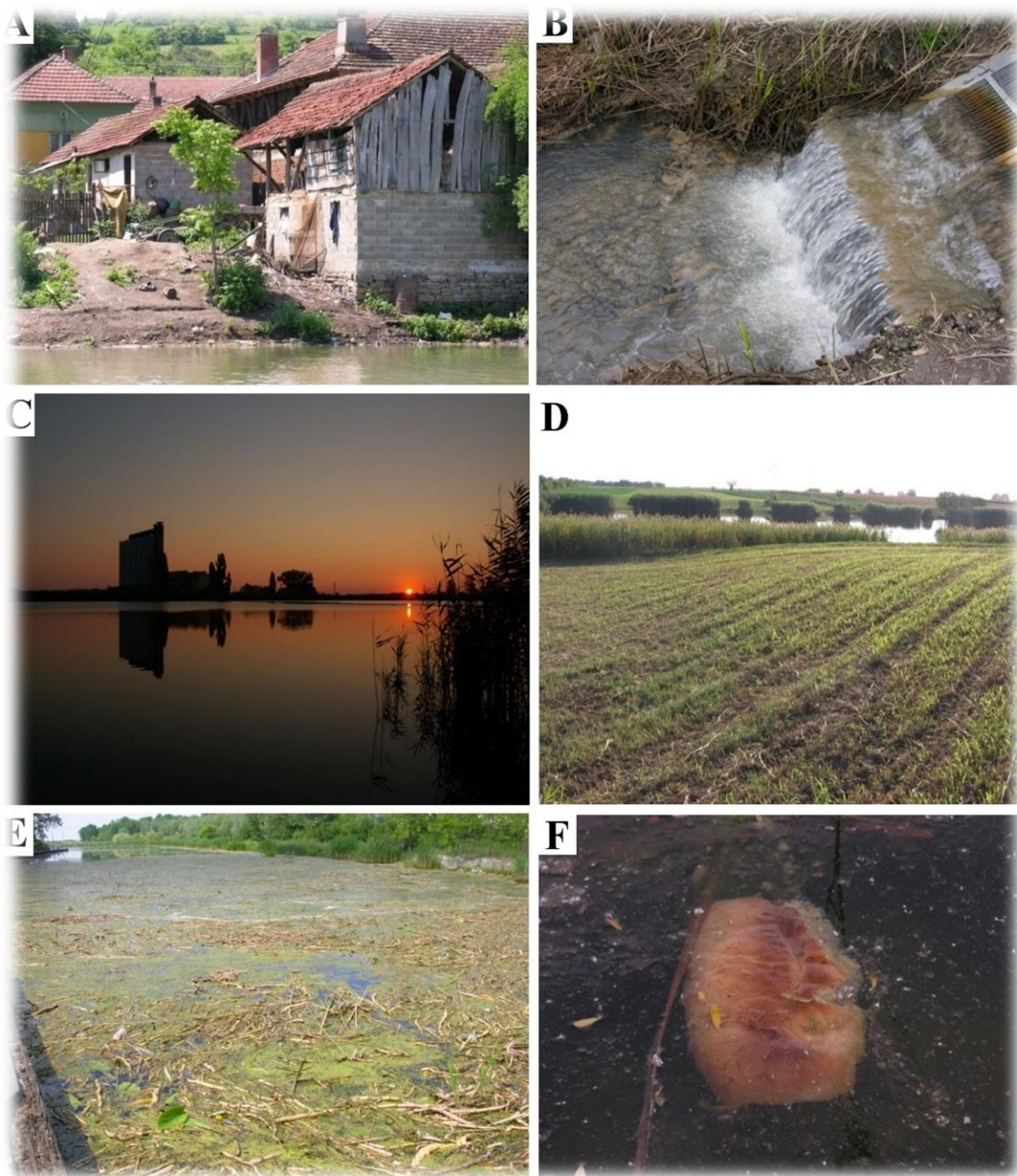
Nedostatak predstavlja zahtev za odgovarajućim standardima, čija je priprema veoma kompleksna a nabavka izuzetno skupa.

9.2. Predlog mera upravljanja vodama za rekreaciju, vodosnadbevanje i navodnjavanje

Toksično cvetanje može ugroziti zdravlje ljudi, životinja i stabilnost cvetajućih i okolnih ekosistema. Najčešće se tokom cvetanja u vodu izlučuju cijanotoksini koji se ubrajaju među najpotentnije prirodne toksine za koje ne postoji odgovarajući protivotrov. Iz tih razloga neophodno je poznavati uslove koji pospešuju cvetanje cijanobakterija, sprovesti mere prevencije i sanacije vodenih ekosistema.

Aktuelne klimatske promene kao što su otopljanje, povećana globalna ili lokalna temperatura vazduha i vode, povećana koncentracija CO₂ u atmosferi, povećan ukupan kapacitet vodenih ekosistema direktno utiču na dinamiku cijanobakterijskog cvetanja u odnosu na dužinu trajanja i učestalost. Cvetanje se može očekivati u svakom visokoeutrofnom vodenom ekosistemu, posebno u plitkim, toplim i sporotekućim vodama. Unošenje fosfata i nitrata kroz prirodno i mineralno đubrivo, sistemom otpadnih, komunalnih i industrijskih voda se pokazalo kao jedan od najčešćih izazivača cvetanja. Tome doprinosi i neadekvatno upravljenje vodama i loše navike korisnika voda (Slika 53). Od posebnog stimulativnog značaja je pH u rangu od 6 do 9 i sadržaj fosfora iznad 10 · g/L. Prirodne nepogode kao što su poplave i erozije takođe mogu povećati učestalost pojave cvetanja.

Tretiranje cvetajućih vodenih ekosistema herbicidima, algicidima, bakar sulfatom ili krečom nije preporučljivo zbog toga što dovodi do naglog uginuća ćelija cijanobakterija i trenutnog oslobađanja velike količine cijanotoksina u vodu. Pored toga dolazi do dodatnog opterećenja ekosistema nepotrebnim hemikalijama.



Slika 53. Neadekvatno upravljanje vodama i loše navike korisnika voda: (a) lokalni izlivi otpadne vode iz domaćinstva: otpadne vode se ulivaju direktno u akumulaciju koja se koristi za vodosnabdevanje, slikano 2006.godine; (b) izlivi otpadne vode industrije, slikano 2007.godine; (c) nepovoljan uticaj industrije, slikano 2007.godine; (d) spiranje sa obradivih površina, slikano 2006.godine; (e) neadekvatno upravljanje: nakon sečenja makrofitske vegetacije koja je ostavljena u vodi i čijom razgradnjom je izazvan lokalni pomor ribe; (f) loše navike ribolovaca: ribolovci ubacuju značajne količine organske materije u akumulaciju za navodnjavanje, slikano 2007. godine.

Sprečavanje i ublažavanje posledica cvetanja je teško i ponekad nemoguće sprovesti merama sanacije, te se zato predlažu prvenstveno mere prevencije:

- smanjiti unos nutrijenata sa okolnih obradivih površina smanjenjem količine fertilizatora ili sprečavanjem njihovog spiranja u vodene ekosisteme;
- regulisati lokalne septičke izlive i komunalni otpad;
- uvesti mere ekoremedijacije i ekomanipulacije.

U mere prevencije se takođe ubraja rano otkrivanje brzine razvoja populacije cijanobakterija i prepoznavanje uslova koji favorizuju njihovo razmnožavanje. Da bi se to ostvarilo, neophodno je organizovati odgovarajući monitoring. Najbolje instrukcije za organizovanje takvog monitoring su publikovane u direktivi Svetske zdravstvene organizacije - SZO⁴. Direktiva daje kratak prikaz načina i nivoa izlaganja ljudi cijanobakterijama i toksinima, opis potencijalnog zdravstvenog rizika i preporučenih aktivnosti, za vode za rekreaciju (Tabela 8) i za vode namenjene za vodosnabdevanje (Tabela 9).

Tabela 8 Rezime direktive Svetske zdravstvene organizacije za upravljanje vodama za rekreaciju koje mogu da sadrže cijanobakterijske ćelije^{4,14}

Stepen zdravstvene ugroženosti	Stanje/gustina populacije	Zdravstveni rizik	Preporučene aktivnosti
Mala zdravstvena ugroženost (koncentracija mikrocistina 2–10 µg/L) Opasnost niskog stepena	<20.000 ćelija cijanobakterija/ml ili <10 µg/L hlorofila <i>a</i> sa dominacijom cijanobakterija	- kratkotrajne zdravstvene negativne posledice (iritacije kože i sluzokože, intestinalne tegobe)	- postavljanje oznaka koje ukazuju na prisustvo cijanobakterija; - informisanje relevantnih institucija
Srednja zdravstvena ugroženost (koncentracija mikrocistina 10–20 µg/L) Opasnost srednjeg stepena	20.000–100.000 cijanobakterijskih ćelija/ml ili 10–50 µg/L hlorofila <i>a</i> sa dominacijom cijanobakterija	- kratkotrajne zdravstvene negativne posledice (iritacije kože i sluzokože, intestinalne tegobe); - hronična obolenja	- intenzivna kontrola gustine populacije; - suzdržavanje od kupanja i direktnog kontakta sa vodom; - postavljanje oznaka koje ukazuju na prisustvo cijanobakterija; -informisanje relevantnih institucija
Velika zdravstvena ugroženost (koncentracija mikrocistina >20 µg/L)	>100.000cijanobakterijskih ćelija/mL ili >50µg/L hlorofila <i>a</i> ; Formiranje cijanobakterijskih nakupina u vodi u	- kratkotrajne zdravstvene negativne posledice (iritacije kože i sluzokože, intestinalne tegobe);	- momentalna akcija prevencije kontakta sa cijanobakterijama; - hitno zbrinjavanje svih koji su bili u kontaktu sa

Opasnost visokog stepena	kupališnom ili drugom rekreacionom prostoru	- hronična obolenja; - mogućnost akutnog trovanja sa letalnim ishodom	cijanobakterijskim nakupinama; - postavljanje oznaka koje ukazuju na zabranu kupanja i drugih aktivnosti u vodama za rekreaciju; - informisanje relevantnih institucija.
--------------------------	---	--	--

Tabela 9. Rezime direktive Svetske zdravstvene organizacije za upravljanje vodama namenjenim za vodosnabdevanje koje mogu da sadrže cijanobakterijske ćelije^{4,13,15}

Nivo upozorenja	Stanje - gustina populacije	Preporučene kktivnosti
Opreznost - opasnost niskog stepena	200 ćelija cijanobakterija/mL	- nedeljni monitoring u necvetajućim uslovima, cijanobakterije se detektuju u malom broju;
Opasnost srednjeg stepena	2.000 cijanobakterijskih ćelija/mL ili 1 µg/L hlorofila <i>a</i> sa dominacijom cijanobakterija	- analiza trenda kretanja ka povećanom broju ili održavanju srednjeg broja cijanobakterija; - voda može biti neupotrebljiva za piće bez prethodne obrade; - u fabrikama vode uvodi se testiranje toksina, naročito ukoliko su u uzorku dominantne poznate toksične vrste; - ponavljati nedeljno analize; - kontinuirano nedeljno određivanje brojnosti cijanobakterija i davanje izveštaja javnosti zbog rizika za iritaciju kože i gastrointestinalnih problema kroz kontakt tokom aktivnosti u vodi (plivanje i dr.);
Opasnost visokog stepena	100.000 cijanobakterijskih ćelija/mL ili 50 µg/L hlorofila <i>a</i> sa dominacijom cijanobakterija	- stalno visok broj potencijalno toksičnih cijanobakterija u vodi i/ili vidljivo lokalizovane formirane nakupine; - voda može biti neupotrebljiva za piće bez predhodnog odgovarajućeg tretmana; - nedeljno uzimanje uzoraka i određivanje broja cijanobakterija; - uvodi se redovno dnevno testiranje toksina; - ukoliko je moguće, zameniti izvor snabdevanja vodom; - šire medijsko izveštavanje javnosti zbog visokog rizika od negativnih zdravstvenih posledica.

U cilju uvođenja strategije upravljanja vodama za rekreaciju, navodnjavanje i vodosnabdevanje, potrebno je pažljivo razmotriti sve elemente monitoringa pojave cijanobakterija i cijanotoksina prema sledećim smernicama opisanim u Tabeli 10⁵:

Tabela 10. Preporučena Strategija upravljanja kroz različite faze aktivnosti (modifikovano)⁵

Faza monitoring aktivnosti	Razlog za monitoring	Preporučene analize
Faza I	postojanje mogućnosti pojave cijanotoksina	<ul style="list-style-type: none"> - koncentracija nutrijenata (ukupni fosfor, nitrati i amonijak); - providnost vode; - fizička svojstva vode (vodni režim i termalna stratifikacija) - različite biološke interakcije;
Faza II	vizuelna inspekcija: ispitivanja indikatora toksičnih cijanobakterija	<ul style="list-style-type: none"> - providnost vode; - promena boje; - formiranje nakupina biomase; - fizička svojstva vode; - temperatura; - vremenske prilike (pravac i jačina duvanja vetra, svetlost...); - promene turbulencije (mešanje); - različite biološke interakcije;
Faza III	<p>a: Kvalitativna i kvantitativna procena nagomilavanja toksičnih cijanobakterija</p> <p>b: Kvantitativno određivanje cijanobakterijske biomase</p>	<ul style="list-style-type: none"> - providnost vode; - kvalitativne mikroskopske analize u cilju određivanja dominantne vrste (ponekad je rod dovoljan); - kvantitativne mikroskopske analize (brojnost ćelija ili kolonija cijanobakterija u odnosu na ukupan broj mikroalgalnih ćelija); - analize hlorofila <i>a</i>;
Faza IV	kvalitativne i kvantitativne analize specifičnih toksina	<ul style="list-style-type: none"> - bioeseji; - biohemijske i hemijske analize.

- Faza I: određivanje kapaciteta ekosistema za razvoj cijanobakterija;
- Faza II: vizuelna inspekcija vodenog ekosistema u cilju detekcije masovnog razvoja;
- Faza III: kvalitativne i kvantitativne analize biomase kao osnove za procenu stepena zdravstvene ugroženosti;
- Faza IV: kvalitativne i kvantitativne analize prisutnih toksina.

Neke od najvažnijih kontrolnih mera sprečavanja unošenja cijanotoksina putem vode za piće sumirane su u Tabeli 11:

Tabela 11. Kritične kontrolne tačke za određivanje zdravstvene bezbednosti resursa za vodosnabdevanje⁴

Kontrolne tačke	Komentari
Tip vodoizvorišta	Zdravstveni rizik povezan sa cijanobakterijskom kontaminacijom podzemnih voda je neznatan. Izuzetak mogu da predstavljaju mesta gde infiltracione površine dolaze pod jak uticaj eutrofnih površinskih voda.
Pojava cijanobakterija u vodoizvorištima i tendencija obrazovanja nakupina i cvetanja	U rezervoarima i jezerima sa veoma niskom koncentracijom nutrijenata (ukupni fosfor <10µg/L), ili u rekama i rezervoarima sa hidrodinamičkim režimom nepovoljnim za cijanobakterije (kontinuirano visok protok ili duboko vertikalno mešanje), drugi fitoplanktonski organizmi mogu potisnuti cijanobakterijske vrste. Vodeni ekosistem koji nema u istoriji zabeležen masovan cijanobakterijski rast ili pojavu cvetanja generalno se smatra da ima nizak rizik od pojave cijanotoksina. Ukoliko je monitoring fitoplanktona redovan, vrlo lako se mogu identifikovati oni vodeni ekosistemi koja se ne odlikuju značajnim rizikom od pojave cijanotoksina.
Verovatnoća lize ćelija u toku transporta ili tretmana	Tokom cijanobakterijskog rasta, većina cijanotoksina je vezana za ćeliju. Uklanjanje cijanobakterijskih ćelija znači samim tim i uklanjanje u velikoj meri i cijanotoksina. Neurotoksini pod određenim okolnostima mogu predstavljati izuzetak. Kada cijanobakterijska ćelija ugine i raspada se (lizira), toksini se oslobađaju u okolnu sredinu. Liza može biti uzrokovana prirodnim faktorima ili hemijskim tretmanom, hidrauličnim režimom u različitim fazama tretmana i transportnim cevima za sirovu vodu.
Tretmanski sistemi za uklanjanje toksina	Metode, kao što su adsorbicija na nekim tipovima granuliranog aktivnog uglja i oksidacija, mogu biti efikasne u uklanjanju cijanotoksina. Ukoliko se ovi procesi vrše samo periodično tokom cijanobakterijskog rasta, monitoring funkcionisanja procesa mora biti adekvatan u cilju sigurnosti uklanjanja cijanotoksina. Mnogo manje se zna o uklanjanju neurotoksina u odnosu na hepatotoksine, pa je naročito važno praćenje toksina

	tokom tretmana i na kraju u finalnoj vodi, ukoliko se konstatuje proliferacija potencijalno neurotoksičnih cijanobakterije.
--	---

Mnoge fabrike voda u postupku pripreme sirove vode primenjuju supstance poput bakar-sulfata, bakar-citrata, bakar-enolata i drugih kompleksa bakra za kontrolu cvetanja cijanobakterija u rezervoarima i akumulacijama za vodosnabdevanje. U tom slučaju zahteva se posebna opreznost, jer tretman može biti primenjen samo pre pojave cvetanja cijanobakterija, a nikako tokom cvetanja. Razlog je u tome što tretman može dovesti do liziranja ćelija cijanobakterija i oslobađanja toksina, čime se značajno povećava koncentracija rastvorenih toksina u vodi. Zbog velike opasnosti od naglog oslobađanja cijanotoksina, algicidi se generalno ne preporučuju u tretmanu vode akumulacija za vodosnabdevanje, a u nekim zemljama su zabranjeni. Umesto tretiranja posledica zagađivanja algicidima, preporučuju se mere predostrožnosti, a sanacija bi trebala biti po tipu ekomanipulacija⁶. Sistem ekomanipulacija predstavlja skup metoda koje se zasnivaju na prirodnim procesima i podrazumeva sistematsko (dugotrajno plansko i periodično) iznošenje svih oblika organske materije (vodenih biljaka, fitoplanktona, ribe itd.), na taj način smanjujući ukupni kapacitet vodenog ekosistema. Sistem ekomanipulacija se može skraćeno nazivati SMUK metode - metode za SManjenje Ukupnog Kapaciteta. U dugoročnom trendu, ekomanipulacije značajno smanjuju stepen primarne produkcije i usporavaju proces eutrofizacije, odnosno starenja (zarastanja) vodenog ekosistema, koje je ubrzano usled antropogenog uticaja (zagađivanju) i klimatskih promena. Planskim regulisanjem ukupnog kapaciteta vodenog ekosistema i kontrolisanim smanjenjem količine organske materije, indirektnim putem se sprečava pojava cijanobakterijskog cvetanja i cijanotoksina u vodenim ekosistemima. Sistem ekomanipulacija podrazumeva istovremenu upotrebu nekoliko različitih metoda u tačno određenom odnosu i kombinaciji, odnosno u skladu sa ekološkim stanjem i karakteristikama tretiranog vodenog ekosistema. Metode ekomanipulacije su sledeće: uklanjanje vodenih biljaka (dinamičko odstranjivanje biomase submerzne, emerzne i flotantne vodene vegetacije), uklanjanje biomase mikroalgi i cijanobakterija, održavanje plutajućih ostrva za usvajanje nutrijenata, implementacija mokrih polja, biomanipulacija ribljim fondom, upotreba zeolita i izmuljivanje. Prilikom uvođenja metoda ekomanipulacije neophodno je predvideti rešenje problema koji se može javiti nakon iznošenja i sakupljanja biomase. Za sakupljenu biomasu se mora naći biotehnoški postupak kojim bi se ona iskoristila na najadekvatniji način, pogotovo ako se radi o ćelijama toksičnih cijanobakterija⁶.

9.3 Informisanje javnosti i odgovarajućih institucija o zdravstvenim aspektima trovanja cijanotoksinima

U najvećem broju slučajeva koncentracija cijanotoksina u vodi nije dovoljno visoka da bi predstavljala rizik od akutnog trovanja. Međutim, simptomi kao što su mučnina, povraćanje, dijareja, iritacija očiju, ušiju, nosa, grla, utrnulost usana, peckanje vrhova prstiju na rukama i nogama, slabost mišića i nesvestica mogu da se jave nakon rekreativnog izlaganja vodi sa gustim nakupinama cijanobakterija, nakon upotrebe vode za piće dobijene neadekvatnom pripremom iz cvetajućih akumulacija ili usled konzumiranja ribe i plodova mora sa akumuliranim cijanotoksinima. Vidljivi akutni inflamatorni i iritativni efekti mogu biti uzrokovani i raspadnutim ćelijskim materijalom cijanobakterija, a ne uvek cijanotoksinima. Ovakvi efekti se povlače brzo i bez intervencije. Međutim, u ekstremnim slučajevima cijanotoksini mogu biti veoma opasni, čak letalni. Posebno hitna medicinska intervencija je neophodna ako se, nakon bilo kakve upotrebe vode u kojoj cvetaju cijanobakterije, pojavi pojačana salivacija, nesvestica ili izraziti grčevi. Važno je naglasiti da su deca mnogo ugroženija od odraslih u odnosu na cijanotoksine zbog više razloga: manja telesna masa, veća verovatnoća slučajnog unošenja kontaminirane vode i teže prepoznavanje simptoma. Na bazi oralnih vrednosti LD₅₀ kod miševa, prema proračunima za dete od 10 kg težine, unošenje oko 2 mg mikrocistina može izazvati akutno oštećenje jetre i ozbiljne zdravstvene posledice, pa čak i letalne. U literaturi su poznate koncentracije mikrocistina veće od 24mg/L nađene u cvetajućoj biomasi.

Zbog realnih mogućnosti izloženosti stanovnika Srbije cijanotoksinima, napravljen je prvi Srpski vodič za cvetanje cijanobakterija u kojem se, između ostalog, nalazi i tabela sa simptomima i znacima trovanja izazvanim konkretnim cijanotoksinima, kao i predloženom terapijom uz prateću anamnezu i utvrđivanje dokaza (Tabela 12)⁷.

Navedeni simptomi i znaci trovanja cijanobakterijskim toksinima zavise od načina i vremena izlaganja, a pojavljuju se između nekoliko sati do nekoliko dana nakon izlaganja. Trovanje cijanotoksinima se može dijagnostikovati na osnovu kliničke slike, navedenih simptoma i anamneze. Anamnestička pitanja podrazumevaju: opis vode, izloženost cijanotoksinima - gde, kada, koliko dugo, svesnost pacijenta, unos alkohola, hrane i lekova neposredno pre izlaganja, kao i drugi razlozi za prisutne simptome. Takođe, utvrđivanje dokaza izloženosti toksinima se preporučuje u svim slučajevima na osnovu sačuvanog uzorka iz želuca (čuvati u frižideru do 2 dana), zbog dokazivanja prisustva cijanobakterija mikroskopiranjem ili cijanotoksina pomoću laboratorijskih analiza.

U slučajevima akutne i hronične ekspozicije ljudi cijanotoksinima putem vode za piće i rekreaciju, poželjno je da se na odgovarajući način informiše javnost o ovoj opasnosti, a posebno sledeće subpopulacije i institucije: pacijenti sa obolelom jetrom (ciroza, nosioci i oboleli od hepatitisa virus B i virus C), konzumenti alkohola i hrane koja sadrži aflatoksine, centri za dijalizu i pacijenti na dijalizi, kao i bolnice zbog sprovođenja infuzije.

Tabela 12. Cijanobakterijski toksini, simptomi, znaci trovanja i terapija⁷

Toksini/ akutni efekat	Simptomi i znaci trovanja	Terapija
Mikrocistini/ hepatotoksini	<p><i>Čovek:</i> Caruaru sindrom (gubitak apetita, grčevi u stomaku, mučnina, povraćanje, dijareja/krvava dijareja, povišena temperatura, glavobolja, bol u mišićima i zglobovima, opšta slabost, pilo-erekcija). Znaci: opšte bledilo kože i mukoznih membrana, dermatitis, suženje očiju, curenje nosa i hladni ekstremiteti; povišen nivo γ-GT, LDH, ALT, SDH. Hronično trovanje: hepatocelularni karcinom, amiotrofična lateralna skleroza.</p> <p><i>Pacov:</i> smrtnost embriona, teratogenost, inicijator i promoter tumora, kardiotoksičnost i nefrotoksičnost, povišen nivo ALT.</p> <p><i>Sisari:</i> slabost, ograničena pokretljivost, anoreksija, bledilo kože ekstremiteta i mukoznih membrana, zbunjenost, preosetljivost na svetlost.</p>	<p><i>Čovek:</i> nema specifične terapije. Sprovesti mere zaštite od trovanja. Dekontaminacija (kupanje čistom vodom i sapunom). Oralna ili gastrična primena aktivnog uglja: 25–100g kod odraslih, 25–50g kod dece, 1 g/kg kod infanta (po mogućnosti ponovljene primene). Primena Sylibilin-a 20–50 mg/kg/dan i.v., terapija tečnostima i elektrolitima, antioksidansima (E vit., polifenoli), dijaliza i transplantacija jetre. Potporna nega i simptomatska terapija. Zabrana uzimanja alkohola i Acetaminophena.</p> <p><i>Životinje:</i> Cholestyramin.</p> <p><i>Profilaksa:</i> Riphampin 50mg/kg i Cyclosporine A 10mg/kg.</p>
Nodularin/ hepatotoksin	<p><i>Čovek:</i> iritacija kože i očiju.</p> <p>Eksperimentalni sistemi: inhibicija protein fosfataza, promocija tumora.</p>	Isto kao kod mikrocistina.
Cilindrospermo psin/ hepatotoksin, citotoksin	<p><i>Čovek:</i> nelagodnost, slabost, anoreksija, povraćanje, dijareja, glavobolja, bubrežna disfunkcija. Znaci: bledilo mukoznih membrana, uvećana jetra, anomalije broja i strukture hromozoma.</p> <p><i>Miš:</i> potištenost, anoreksija, dijareja, otežano disanje i smrt.</p>	Nije poznata.
Anatoksin-a/ neurotoksin	<p><i>Čovek:</i> nije potvrđeno.</p> <p><i>Životinje:</i> progresivno podrhtavanje mišića, umanjena pokretljivost, abdominalni tip disanja, cijanoza, konvulzije, paraliza, asfiksija i smrt.</p> <p><i>Ptice:</i> opisotonus ("s" - oblik vrata), vrtoglavica, fascikulacije mišića, otežano disanje, konvulzije, cijanoza, lučno savijanje vrata unazad i smrt.</p>	<p>Gastrična primena aktivnog uglja, asistirana respiratorna terapija, detoksikacija i respiratorni oporavak. U slučajevima progresije bolesti primeniti Diazepam 5 mg i.v.. Phentiazini, parasimpatikomimetici i antihistaminici su kontraindikovani jer imaju antiholinergičnu aktivnost i po-</p>

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

		spešuju neurotoksičnost. Potporna nega i simptomatska terapija.
Anatoksin-a(s) /neurotoksin	<p><i>Čovek:</i> grčevi i fascikulacija mišića, paraliza, srčana i respiratorna insuficijencija.</p> <p><i>Svinja:</i> hipersalivacija, otežano nazalno disanje, tremor, fascikulacija, ataksija, dijareja, ležeći položaj.</p> <p><i>Patka:</i> regurgitacija, pareza, opisotonus, klonični grčevi, smrt.</p> <p><i>Miš:</i> pojačano suzenje i lučenje pljuvačke, uriniranje, defekacija i smrt zbog respiratornog zastoja.</p> <p><i>Pacov:</i> crvenilo kože ušiju, grčenje i fascikulacija mišića, konvulzije, cijanoza, nesvestica i smrt.</p>	<p>Gastrična primena aktivnog uglja, asistirana respiratorna terapija, detoksikacija i respiratorni oporavak.</p> <p>U slučajevima progresije bolesti primeniti Diazepam 5 mg i.v.. Phenothiazini, parasimpatikomimici i antihistaminici su kontraindikovani jer imaju antiholinergičnu aktivnost i mogu da pospešuju neurotoksičnost. Potporna nega i simptomatska terapija.</p>
Saksitoksin, neosaksitoksin/ neurotoksini	<p><i>Čovek:</i> parestezija, utrnulost usana i usta do 3 sata nakon ekspozicije, izobličenost lica, slabost mišića vrata i ekstremiteta, diskoordinacija, respiratorna i mišićna paraliza.</p> <p><i>Životinje:</i> diskoordinacija, smrt usled gušenja.</p>	Gastrična primena aktivnog uglja, asistirana respiratorna terapija, detoksikacija i respiratorni oporavak. Potporna nega i simptomatska terapija.
Apliziatoksin, lingbiatoksin/ dermatotoksini	<p><i>Čovek:</i> dermatitis, iritacija kože, "plivačka" bolest, duboka deskvamacija i plikovi, kancer kože.</p> <p><i>Miš:</i> gastrointestinalne erozije sluznice, upala pluća i smrt.</p>	Dekontaminacija. Potporna nega i simptomatska terapija.
LPL Lipopolisaharidi /citotoksini	<p><i>Čovek:</i> dermatitis, iritacija kože, gastroenteritis, dijareja, grčevi u stomaku, mučnina, alergijske reakcije, iritacija očiju, nosa i bronhopulmonarnog sistema (emfizem, obstruktivna hronična bolest i astma), groznica, drhtavica, glavobolja, plihovi mukoznih membrana.</p>	Dekontaminacija. Potporna nega i simptomatska terapija.
Neproteinska aminokiselina BMA/neurotoksini	<p><i>Čovek:</i> slabost i/ili atrofija mišića ekstremiteta, grčevi mišića, teškoće u govoru; znaci: disfagija, dizartrija, spastičnost, hiperrefleksija, Babinski pozitivan, emocionalna labilnost. Alzheimer-motorna slabost i oštećenje</p>	<p>Respiratorna potpora, simptomatska i fizikalna terapija. U kliničkom ispitivanju su Olesoxiur, Arimoclamol, IGF-1, visoke doze B12 vitamina.</p>

	govora; znaci: bradikinezija, akinezija, posturalna nestabilnost, demencija.	
--	--	--

Osnovna uputstva za izbegavanje zdravstvene ugroženosti:

1. Konzumirati samo adekvatno pripremljenu vodu ako se prerađuje iz površinskih akumulacija.
2. Izbegavati kontakt sa vodom na čijoj površini su vidljive nakupine biomase cijanobakterija. Posebno je opasno plivanje, ronjenje, veslanje, skijanje i druge rekreativne aktivnosti na i pored vode. Ne koristiti takvu vodu za tuširanje, punjenje bazena i zalivanje sportskih terena. Pristupiti istim merama opreza uvek kada je providnost vode manja od pola metra.
3. Istuširati se obavezno nakon upotrebe cvetajuće vode u svrhe rekreacije.
4. Nikada ne dopustiti deci i kućnim ljubimcima kontakt sa vodom na čijoj površini su vidljive nakupine biomase.
5. Ne dopustiti kućnim ljubimcima i drugim domaćim životinjama da se kupaju ili piju vodu koja je izmenjene boje i mirisa, na čijoj površini se vide agregacije cijanobakterija ili pena.
6. Ne zalivati poljoprivredne površine vodom iz akumulacija i jezera u kojima je detektovano cvetanje ili postoji sumnja na prisustvo cijanotoksina.
7. Ne koristiti algicide i druga hemijska sredstva za uništavanje i sprečavanje rasta cijanobakterija.
8. Potražiti urgentni medicinski tretman, savet i zaštitu u slučaju sumnje da je došlo do trovanja cijanotoksinima.
9. Označiti kupališta znakom zabrane njihove upotrebe tokom cvetanja i najmanje jednu do dve nedelje nakon toga.

Jedna od veoma bitnih mera predostrožnosti je analiza toksina u uzorcima vode sa cvetajućim cijanobakterijama. Svako cijanobakterijsko cvetanje je potencijalno toksično i zato se preporučuje najveći oprez dok se ne urade laboratorijske analize. Samo laboratorijski standardizovani testovi mogu potvrditi da li je cvetanje toksično. Da bi se oni korektno izveli neophodno je uraditi kvalitativnu i kvantitativnu analizu cijanobakterija u donetom uzorku vode u cilju procene prisutnosti određenih vrsta cijanotoksina. Preporučeno je izbegavanje svakog kontakta sa takvim vodenim ekosistemima sve dok se ne potvrdi bezbednost korišćenja u bilo koje svrhe. Samo laboratorijski standardizovani testovi mogu potvrditi da li je i koliko cvetanje rizik za zdravlje ljudi i životinja. Uzorkovan cvetajući material (Slika 54) se sakuplja u staklenim (preporučljivo) ili plastičnim bocama sa bezbednim zatvaračem u cilju transporta do laboratorije koja je opremljena za analize cijanotoksina. Konzervansi se ne smeju dodavati u uzorke vode. Preporučuje se transport uzoraka u ručnom frižideru.

U slučaju pojave prvih simptoma trovanja i sumnje da je došlo do kontakta sa cijanotoksinima, neophodno je odmah potražiti lekarsku pomoć i obavestiti nadležne službe javnog zdravlja i organe vlasti. Potrebno je hitno uzorkovati vodu i determinisati



Slika 54. Uzorkovan materijal iz cvetajućih akumulacija sakupljen neprofiltriran i nekonzervisan u: bocama (levo) i sterilnim čašama sa poklopcem (desno)

cijanobakterije kojima je pacijent bio izložen. Analize cijanotoksina su značajne zbog dijagnoze, ali i zbog procene opšte ugroženosti korisnika vodenog ekosistema i organizovanja pravilnog rukovođenja u cilju smanjenja zdravstvenog rizika.

9.4. Tolerantni unos cijanotoksina, predlozi Svetske zdravstvene organizacije i iskustva iz sveta

9.4.1. Tolerantni (dozvoljeni) dnevni unos cijanotoksina (TDU)

Zbog brojnih zdravstvenih posledica koje mogu da izazovu cijanotoksini, posebno mikrocistini, Svetska zdravstvena organizacija (SZO) je odredila tolerantni dnevni unos (TDU) od 0,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne mase čoveka, kao i privremenu graničnu vrednost (GV) za MC-LR u pijaćoj vodi od 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ ⁸. TDU u ovom slušaju je količina potencijalno štetne supstance koja može da se konzumira tokom kritičnih perioda prisutnosti cijanotoksina sa zanemarljivim rizikom od neželjenih efekata po zdravlje.

U cilju procene zdravstvenih rizika vezanih za mikrocistine u vodi za rekreaciju, SZO je koristila vrednosti za odraslu osobu težine 60 kg, koja unosi 100 mL vode tokom plivanja ili neke vrste rekreacije na i u vodi. Za dete težine 15 kg korišćeno je 250 mL vode unete u toku istih aktivnosti. Pojedinci sa izvesnim postojećim zdravstvenim problemima (npr. bolesti jetre) mogu biti izloženi većem riziku. Imajući to u vidu SZO je odredila nisko rizične

vrednosti od 4 µg/L, umereno rizične vrednosti za microcistin u rekreativnim vodama od 20 µg/L i visoko rizične koncentracije mikrocinina ako se formira vidljiva prevlaka cijanobakterija na vodi za rekreaciju. SZO je dala vrednosti i za još neke potencijalne puteve ekspozicije kao što su meso ribe (1 µg/gr) i suplementi (1 µg/gr)⁸. Navedene vrednosti ne predstavljaju internacionalne standarde, pa ih se neke zemlje pridržavaju, a neke su postavile nacionalne standarde, na osnovu svojih socijalnih, ekonomskih i sredinskih faktora. Jedna od zemalja koja je najviše uradila po tom pitanju je Australija.

9.4.2. Stanje u svetu

Neke zemlje su prihvatile navedene vrednosti (Češka, Danska, Francuska, Holandija, Italija, Japan, Koreja, Norveška, Poljska i Španija), dok su druge formulisale svoje vrednosti, u zavisnosti od lokalnih uslova (Australija, Novi Zeland, Kanada), a najopsežniji zakon uveden je u Brazilu⁹. Formiranje legislative sa graničnim vrednostima za različite načine izlaganja ljudi cijanotoksinima vrši se radi prevencije potencijalnog zdravstvenog rizika. U mnogim zemljama mere za zaštitu javnog zdravlja od cijanotoksina realizovane su primenom orijentacionih graničnih vrednosti predloženih od strane SZO. Preporučene vrednosti ne predstavljaju obavezne internacionalne standarde, ali ih se neke zemlje pridržavaju, a neke su postavile svoje nacionalne standarde na osnovu nacionalnih, ekonomskih i sredinskih faktora. U Tabeli 13 nalaze se dozvoljene granične vrednosti u legislativama zemalja koje su ih preporučile.

Tabela 13. Dozvoljene granične vrednosti cijanotoksina^{8,9,10,11,12}

Izvor cijanotoksina	Dozvoljene granične vrednosti	Države u kojima je dat predlog dozvoljenih graničnih vrednosti
Voda za piće	1 µg/L MC-LR	SZO, Češka Republika, Južna Afrika, Kanada, Novi Zeland, Singapur, Turska, Urugvaj
	3 µg/L anatoksin-a	Novi Zeland
	1 µg/L anatoksin-a (S)	Novi Zeland
	2 µg/L homoanatoksin-a	Novi Zeland
	1 µg/L cilindrospermopsina	Australija, Novi Zeland
	3 µg/L saksitoksina i ekvivalenta	Australija, Brazil, Novi Zeland
	1 µg/L nodularina	Novi Zeland
Vode za rekreaciju		
Relativno nizak rizik	20.000 ćelija/mL (2–4 µg/L microcistina)	Češka Republika, Francuska, Italija, Mađarska, Turska

Srednje značajan rizik	100.000 ćelija/mL (>20 µg/L mikrocistina)	Češka Republika, Francuska, Italija, Kanada, Kuba, Mađarska, Turska
Stanje visokog rizika	pojava vidljivih nakupina na površini	Francuska, Italija, Turska

Pored standardnih mikrocistina, neke države su odredile vrednosti i za druge cijanotoksine. Najnoviji stavovi država po pitanju procene rizika, menadžmenta i regulacija cijanobakterija i cijanotoksina u vodama za piće i rekreaciju sumirani su u Tabelama 14 i 15.

Tabela 14. Primeri graničnih vrednosti (GV) ili standarda (S) i drugih propisa ili preporuka za upravljanje cijanotoksinima u vodi za piće; (P)MAV/(P)MAC: (privremena) maksimalna vrednost ili koncentracija; HAV: vrednost opasna po zdravlje⁹

Država	Cijanobakterije (maksimalno dozvoljeno)	Cijanotoksin	Komentar
Argentina	Nema posebnog menadženta i monitoringa, neki vodovodi imaju svopstvene odrednice i obično su to predložene GV SZO za MC-LR od 1 µg/L		
Australija	Toksični soj <i>Microcystis aeruginosa</i> 6.500 ćelija/mL ili biovolumen od 0,6 mm ³ /L	MC GV 1,3 µg/L	Australijske Smernice za pijaće vode (2011) su skup nacionalnih smernica koje pojedinačne države/teritorije koriste kao osnov za njihove specifične regulatorne zahteve
	Toksični soj <i>Nodularia spumigena</i> HAL 40.000 ćelija /mL ili biovolumen od 9,1 mm ³ /L	NOD -	
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> 15.000–20.000 ćelija /mL ili biovolumen od 0,6–0,8 mm ³ /L	CYN HAV: 1 µg/L	
	Toksični soj <i>A. circinalis</i> 20.000 ćelija/mL ili biovolumen 5 mm ³ /L	STX HAL: 3 µg/L	
Brazil	GV: 10.000–20.000 ćelija/mL ili biovolumen 1 mm ³ /L	MC S: 1 µg/L	> 10.000 ćelija/mL potrebno nedeljno praćenje > 20.000 ćelija/mL testiranje toksičnosti i / ili cijanotoksina u vodi za piće su obavezni
		CYN GV: 15 µg/L	
		STX ekvi. GV: 3 µg/L	
Češka Republika	U sirovoj vodi	MC-LR u tretiranoj vodi	Nivo opreza: kvantifikacija cijanobakterija u sirovoj vodi najmanje jednom

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

	<p>≥ 1 kolonija/mL ili</p> <p>≥ 5 filamenata/mL</p>	<p>S:1 µg/L</p> <p>Monitoring jednom nedeljno</p>	<p>nedeljno; vizuelne opservacija cvetanja</p>
	<p>≥ 2.000 ćelija/mL ili</p> <p>≥ 0,2 mm³/L biovolumen ili</p> <p>≥ 1 µg/L hlorofil a</p>		<p>Nivo uzbune 1: pokušaj smanjenja cijanobakterija i toksina tetmanom vode (ako je potrebno analize toksina)</p>
	<p>≥ 100.000 ćelija/mL ili</p> <p>≥ 10 mm³/L biovolumen ili</p> <p>≥ 10 µg/L hlorofil a</p>		<p>Nivo uzbune 2: veći naglasak na efikasnost tretmana i monitoring MC</p>
Danska	<p>Nema posebnih propisa za cijanotoksine u pijaćim vodama jer gotovo sve potiču iz podzemnih voda. U malom broju slučajevima površinskih voda primenjuju se GV SZO za MC-LR od 1 µg/L.</p>		
Finska	<p>Potencijalno toksično cijanobakterije u sirovoj vodi</p> <p>>5.000 ćelija/mL ili</p> <p>> 1 mg/L biomase</p>		<p>Monitoring MC i pojačani tretman</p>
	<p>> 100.000 ćelija/mL,</p> <p>> 20 mg/L biomase</p>	<p>MC u sirovoj vodi GV: > 1 µg/L</p>	<p>Restrikcija upotrebe vode, informisanje potrošača</p>
	<p>nema</p>	<p>MC u finalnoj vodi za piće GV: > 10 µg/L</p>	<p>Zabrana upotrebe</p>
Francuska	<p>nema</p>	<p>MC 1 µg/L</p>	<p>Analize potrebne u sirovoj vodi i na tački distribucijesamo pri cvetanju</p>
Holandija	<p>Nema posebnih propisa za cijanotoksine u vodi za piće, 40 % vodosnabdevanja su dobro zaštićene površinske vode. Po potrebi se koristi SZO GV MC 1 µg/L.</p>		
Italija	<p>Nacionalni dekret uključuje "alge" kao parametar za praćenje ako lokalne vlasti pretpostavljaju rizik, na osnovu SZO GV za MC-LR.</p>		
Južna Afrika	<p>nema</p>	<p>MC-LR GV:1 µg/L</p>	<p>Praćenje i hlorofila a i broja ćelija cijanobakterija</p>
Kanada	<p>nema</p>	<p>MC-LR MAC: 1,5 µg/L</p>	<p>Monitoring u slučaju cvetanja</p>

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

		Anatoksin a PMAV: 3,7 µg/L	Samo u Kvebeku
Kuba	Fitoplankton < 20.000 ćelija/mL Cijanobakterije < 1.500 ćelija/mL		Vizuelna mesečna inspekcija, uzorkovanje 4 meseca godišnje
	Fitoplankton 20.000–100.000 ćelija/mL; Cijanobakterije > 50%; Bar jedna vrsta toksična		Pojačana inspekcija i uzorkovanje, obaveštenje za potrošače i nadležne
	Potvrđeno cvetanje i toksični efekti na ljude i životinje		Uzbuna, restrikcija upotrebe vode
Mađarska	Legislativa uključuje praćenje bioloških parametara mikroskopiranjem npr. cijanobakterije, barem jednom godišnje.		
Nemačka	Nema posebnih propisa za cijanotoksine u vodi za piće, 20 % vodosnabdevanja su dobro zaštićene površinske vode. U slučaju pojave cijanobakterija koristi se SZO GV MC. Nacionalne smernice za supstance sa nepotpunim toksikološkim dokazima ukoliko se kancerogeneza ne može isključiti kao mogućnost predlaže < 0,1 µg/L može se primeniti na cilindrospermopsin.		
Novi Zeland	nema	MC-LR ekvi. PMAV 1 µg/L NOD PMAV 1 µg/L CYN PMAV 1 µg/L STX ekvi. PMAV 3 µg/L Anatoksin a PMAV 6 µg/L Anatoksin a(S) PMAV 1 µg/L Homoanatoksin PMAV 2 µg/L	Efektivna primena protokola je sprečila da PMAV koncentracije stignu do potrošača
SAD	Nema nacionalnih zahteva, ali mnoge države preduzimaju razne akcije.		
Singapur	nema	MC-LR totalni intra i ekstracelularni S: 1 µg/L	Svaki dobavljač vode za piće je u zakonskoj obavezi da pripremi i sprovede sigurnosni plan

			za kvalitetu vode u skladu sa standardom
Španija	nema	MC 1 µg/L	S: Analiza usled jasne eutrofikacije izvora vode
Turska	> 5 000 ćelija/mL ili > 1 µg/L hlorofil <i>a</i>		Mesečne analize sirove vode, u slučaju prekoračenja nedeljno uzorkovanje i analize toksina
	nema	MC-LR ekvi. 1 µg/L	Analize toksina u tretiranoj vodi, pojačan tretman ili alternativni izvor vode
Urugvaj	nema	MC-LR 1 µg/L	S: Uredba: "Voda za piće ne bi trebalo da sadrži količinu cijanobakterija koja bi mogla uticati na karakteristike vode ili ljudsko zdravlje".

LEGENDA: MC-mikrocistin; NOD-nodularin; STX-saksitoksin; CYN-cilindrospermopsin

Tabela 15. Primeri obaveštavanja i upravljanje cijanotoksinima u vodi za rekreaciju u različitim državama⁹

Država	Parametar i vrednosti	Akcija
Australija	<i>M. aeruginosa</i> ≥ 500 do < 5.000 ćelija/mL ili biovolumen > 0,04 do < 0,4 mm ³ /L svih cijanobakterija	Regularni monitoring
	<i>M. aeruginosa</i> ≥ 5.000 < 50.000 ćelija/mL ili biovolumen ≥ 0.4 do < 4 mm ³ /L svih cijanobakterija sa prisutnim producentom toksina ili ≥ 0,4 do < 10 mm ³ /L svih cijanobakterija gde producent toksina nije prisutan	Obaveštavanje agencija, češće uzorkovanje, vizuelna inspekcija, procena potrebe monitoringa toksina
	Toksični <i>M. aeruginosa</i> ≥ 50.000 ćelija/mL ili biovolumen ≥ 4 mm ³ /L svih cijanobakterija sa prisutnim producentom toksina MC ≥ 10 µg/L ili ≥ 10 mm ³ /L svih cijanobakterija gde	Nastavak monitoringa, obaveštenje organizacija za zdravstvene savete, analiza toksina, obaveštavanje javnosti o zdravstvenim posledicama

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

	producent toksina nije prisutan ili je cvetanje stalno prisutno	
Češka Republika	> 20.000 ćelija/mL	1. nivo upozorenja
	> 100.000 ćelija/mL	2. nivo upozorenja, zatvaranje
Danska	Nakupine u delu za rekreaciju ili hlorofil > 50 µg/L i dominacija cijanobakterija	Informisanje nadležnih i odluka o obaveštavanju javnosti-postavljanje znakova, preko medija i lokalnih korisničkih grupa
Finska	Zelene fleke na vodi ili nakupine na obali, smanjena providnost vode	Nivo 1: Moguće mikroskopiranje i analize toksina ako su u pitanju popularne plaže ili su uočeni efekti na ljude ili uginule životinje
	Obojenje vode, cijanobakterijska masa na plaži	Nivo 2: Poželjno mikroskopiranje i analize toksina; obaveštavanje javnosti
	Izražene nakupine cijanobakterija na površini vode i na obali	Nivo 3: Poželjno mikroskopiranje i analize toksina; obaveštavanje javnosti
Francuska	Uočljivo cvetanje, promena boje vode	Mikroskopiranje; ako su prisutne cijanobakterije: brojanje i identifikacija roda
	< 20.000 ćelija/mL ± 20 %	Dnevni monitoring; nedeljno brojanje; normalne rekreativne aktivnosti
	20.000–100.000 ćelija/mL ± 20 %	Dnevni monitoring; nedeljno brojanje; dozvoljene rekreativne aktivnosti; javnost je informisana posterima
	> 100.000 ćelija/mL ± 10 %. 25 µg/L MC-LR ekvi. ± 5 %	MC < 25 µg/L restrikcija kupanja i rekreativnih aktivnosti; MC > 25 µg/L zabrana kupanja i restrikcija rekreativnih aktivnosti; obaveštavanje javnosti
	Nakupine ili pena na mestu rekreacije	Zabranjene sve aktivnosti na vodi gde su nakupine; druge oblasti koje nisu zahvaćene mogu ostati otvorene
Holandija	Hlorofil <i>a</i> < 12.5 µg/L ili biovolumen < 2,5 mm ³ /L	Monitoring
	Hlorofil <i>a</i> 12,5–75 µg/L ili biovolumen 2,5–15 mm ³ /L	Nivo uzbune 1: nedeljni monitoring i izdavanje upozorenja u trajanju od nedelje dana: "Toksične modro-zelene alge. Rizik od iritacije kože i intestinalnih problema"

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

	Hlorofil <i>a</i> > 75 µg/L ili biovolumen > 15 mm ³ /L	Nivo uzbune 2: nedeljni monitoring i savet korisnicima: "Savetuje vam se da se ne kupate u ovoj vodi"; moguća zabrana od strane lokalnih vlasti
Italija	< 20.000 ćelija/mL	Dnevna vizuelna inspekcija; nedeljno brojanje
	20.000–100.000 ćelija/mL	Dnevna vizuelna inspekcija; nedeljno brojanje; informisanje javnosti; kvantifikovanje MC
	> 100.000 ćelija/mL	Zabrana kupanja do određivanja MC; informisanje javnosti; nedeljno brojanje
	Prisutne nakupine	Zabrana kupanja do određivanja MC; upozorenje; monitoring pomeranja nakupina
	MC > 25 µg/L	Zabrana kupanja
Kanada	≤ 100.000 ćelija/mL ili MC-LR ≤ 20 µg/L	Može se izdati upozorenje za plivače da se izbegava dalji kontakt sa vodom
Kuba	Fitoplankton < 1.500 ćelija/mL Cijanobakterija < 500 ćelija/mL	Mesečna vizuelna inspekcija i uzorkovanje barem 4 meseca godišnje
	20.000–100.000 ćelija/mL >50% cijanobakterija	Uzbuna: češće uzorkovanje (nedeljno); dnevna inspekcija; obaveštenje zdravstvenim institucijama, lokalnoj vlasti i javnosti
	Nakupine stalno prisutne; potvrđeno cvetanje; prijave toksičnih efekata kod ljudi ili životinja	Uzbuna sa pojačanim akcijama informisanja javnosti
Mađarska	Hlorofil <i>a</i> < 10 µg/L ili < 20 000 ćelija/mL ili MC-LR ekvi. < 4 µg/L	Odlično stanje
	Hlorofil <i>a</i> < 25 µg/L ili < 50.000 ćelija/mL ili MC-LR ekvi. < 10 µg/L	Dobro stanje
	Hlorofil <i>a</i> < 50 µg/L ili < 100.000 ćelija/mL ili MC-LR ekvi. < 20 µg/L	Zadovoljavajuće stanje
	Hlorofil <i>a</i> >50 µg/L ili > 100.000 ćelija/mL ili MC-LR ekvi. > 20 µg/L	Neprihvatljivo stanje

9. MERE PREDOSTROŽNOSTI I KONTROLE ZDRASTVENOG RIZIKA OD DELOVANJA CIJANOTOKSINA

Nemačka	Secchi Disk > 1 m i < 40 µg/L hlorofil <i>a</i> ili biovolumen < 1 mm ³ /L ili MC < 10 µg/L	Monitoring daljeg razvoja cijanobakterija
	Secchi Disk < 1 m i > 40 µg/L hlorofil <i>a</i> ili biovolumen > 1mm ³ /L ili MC > 10 µg/L	Izdavanje upozorenja protiv kupanja, razmotriti trenutno zatvaranje
	Izražene nakupine i/ili MC > 100 µg/L	Izdavanje upozorenja protiv kupanja, predlaže se trenutno zatvaranje
Novi Zeland	< 500 ćelija/mL	Posmatranje: nedeljna vizuelna inspekcija i uzorkovanje između leta i jeseni
	0,5 do < 1,8 mm ³ /L biovolumen potencijalno toksičnih cijanobakterija ili 0,5 do < 10 mm ³ /L svih cijanobakterija	Uzbuna: povećana nedeljna inspekcija i uzorkovanje na više mesta; obaveštenje zdravstvenih institucija
	MC ≥ 12 µg/L ili biov. ≥ 1,8 mm ³ /L potencijalno toksičnih cijanobakterija ili ≥ 10 mm ³ /L biov. svih cijanobakterija ili konstantno prisustvo nakupina	Akcija: Nastaviti monitoring; ako su prisutni toksični rodovi, testirati cijanotoksine; obavestiti javnost o potencijalnim zdravstvenim rizicima
Poljska	Uzorkovanje ne manje od 4 puta po sezoni (ne više od mesec dana između)	
SAD	Nema nacionalnih zahteva, ali mnoge države preduzimaju razne akcije	
Singapur	Hlorofil <i>a</i> ≤ 50 µg/L	Status se procenjuje godišnje: ako je vodeni ekosistem nestabilan za rekreativne vodene aktivnosti, obaveštava se javnost
Španija	Mala verovatnoća cvetanja	Lokalni kriterijumi; neki koriste SZO smernice, neki imaju dodatne parametre; trenutno zatvaranje se dešavalo na osnovu brojnosti cijanobakterija
	Srednja verovatnoća	
	Visoka verovatnoća	
Turska	< 20.000 ćelija/mL ili < 10 µg/L MC-LR ekvi. ili < 10 µg/L hlorofil <i>a</i>	Nivo 1: dozvoljena rekreacija, javnost je obaveštena posterom; monitoring (uzorkovanje, brojanje i identifikacija)
	20.000–100.000 ćelija/mL ili	Nivo 2: > 20.000 ćelija/mL, analiza MC; MC-LR ekvi > 25 µg/L, hitna akcija

	>25 µg/L MC-LR ekvi.	informisanja nadležnih i javnosti; postavljanje javnih natpisa
	Nakupine u oblasti rekreacije	Nivo 3: sve aktivnosti se zabranjuju

9.4.3. Iskustva iz Republike Srbije

U Srbiji ne postoji legislativa o dozvoljenim graničnim vrednostima unošenja cijanotoksina. Naša preporuka je da se granične vrednosti snize na minimum, jer postoji nedostatak informacija vezan za brojna nerešena pitanja i zdravstvene probleme. Nepoznate su posledice hroničnog izlaganja sa kumulativnim efektima nakon ingestije kontaminirane vode za piće, hrane ili cijanobakterijskih suplemenata sa povišenim nivoom cijanotoksina. Za većinu cijanotoksina, TDU (tolerantni dnevni unos) vrednost još nije izračunata. Osim toga, postoji značajna razlika u fiziologiji između glodara, na kojima su rađeni eksperimenti prilikom utvrđivanja TDU, i ljudi. Ta razlika se mora uzeti u obzir prilikom izračunavanja TDU, jer izlaganje MC-LR putem hrane ili vode različito je kod glodara i ljudi. Zatim, usvajanje MC-LR u gastrointestinalnom traktu je manje kod glodara u poređenju sa usvajanjem kod ljudi. Isto tako, putevi prenošenja i eliminisanja MC-LR su species specifični. Efikasnost sinteze PP1 i PP2a je najverovatnije drugačija kod ljudi i glodara. Takođe, jetra nije jedini organ pogođen efektima mikrocistina zato što oni utiču i na bubrege, mozak, srce, mišiće i druge organe i sisteme. Smanjena funkcija jetre produžuje vreme poluraspada MC-LR u krvi, što dovodi do povećanja rizika od hroničnog izlaganja toksinima. Uz to, jedna vrsta cijanobakterija može da proizvede veliki broj različitih cijanotoksina, a simultano dejstvo nekoliko različitih cijanotoksina nije dovoljno proučeno. Familija mikrocistina ima više od dve stotine članova koji su, kao i drugi cijanotoksini, nedovoljno proučeni, te mogu biti uneti neopaženo ukoliko se legislativom reguliše samo jedan ili nekoliko toksina. Osim toga, primećene su i razlike u iznosima koncentracija detektovanih toksina prilikom primenivanja različitih metoda.

Čak i u zemljama gde legislativa postoji, ukupan dnevni unos mikrocistina i drugih cijanotoksina može biti značajno povećan združenim načinima izloženosti ovim toksinima: uz 1,5 litru vode za piće dnevno se unos mikrocistina povećava konzumiranjem supe koja je evaporat vode za piće, unosom kontaminirane ribe i riblje čorbe koja je evaporat vode i ekstrakt mesa ribe, ishranom biljkama koje su zalivane kontaminiranom vodom, upotrebom suplemenata na bazi cijanobakterija, tuširanjem, rekreacijskim aktivnostima na cvetajućim akumulacijama i tako dalje. U slučaju prekoračenja graničnih vrednosti, u regionima gde je ukupan sadržaj mikrocistina značajno povećan različitim putevima ekspozicije, neophodno je informisati javnost, naročito podložne subpopulacije odnosno pacijente sa oboljenjima jetre, roditelje novorođenčadi i male dece kao i centre za dijalizu.

S obzirom da na području cele Srbije ne postoji ustanovljen monitoring program koji se odnosi na pojavu toksičnih cijanobakterija i cijanotoksina u vodi, od velikog je značaja osmišljavanje i predlog uvođenja redovnog monitoringa vodenih ekosistema.

Razvijen je veliki broj metoda pomoću kojih je moguće detektovati različite grupe cijanotoksina u različitim tipovima uzoraka. One mogu biti visoko sofisticirane analitičke tehnike ali i jednostavne metode za skrining bioloških uzoraka. Grubo se mogu podeliti na:

1. Biološke testove

1.1. Biološki testovi sa račićem *Daphnia* sp.

1.2. Biološki testovi sa račićem *Artemia salina*

2. Biohemijske metode

2.1. Enzimski imuno-vezujući test

2.2. Esej inhibicije enzima protein fosfataze 1

3. Fizičko-hemijske metode

Svako cvetanje cijanobakterija treba smatrati toksičnim dok se ne dokaže suprotno. Koje grupe toksina će biti testirane zavisi od vrsta cijanobakterija dominantnih u uzorku.

Zbog brojnih zdravstvenih posledica koje mogu da izazovu cijanotoksini, posebno mikrocistini, Svetska zdravstvena organizacija (SZO) je odredila tolerantni dnevni unos (TDU) od 0,04 µg/kg telesne mase čoveka. TDU je količina potencijalno štetne supstance koja može da se konzumira tokom kritičnog perioda prisustva toksina sa zanemarljivim rizikom od neželjenih efekata po zdravlje.

Zbog učestalih problema koji se javljaju usled izloženosti ljudske populacije cijanotoksinima, Svetska zdravstvena organizacija (SZO) je utvrdila najvišu dozvoljenu koncentraciju MC-LR ili graničnu vrednost (GV) u vodi za piće od 1 µg/L. Međutim, moguće je da se u nekim slučajevima desi da koncentracija mikrocistina u vodi bude značajno veća, pogotovo u zemljama gde nema zakonom propisanih dozvoljenih vrednosti i monitoringa ovih parametara. Iz tog razloga granične vrednosti za cijanotoksine treba da budu revidirane i pažljivo uvedene u domaću legislativu.

Usled prisutnosti cijanobakterijskih toksina kao hazardnih supstanci u prirodi i efekata koji mogu imati na ekosistem i živi svet, neophodno je da se uvede odgovarajuća strategija upravljanja vodama za vodosnabdevanje, rekreaciju i navodnjavanje u zemljama u kojima takva strategija još ne postoji.

Literatura:

1. Lindner P, Molz R, Yacoub-George E, Wolf H. (2004): Development of highly sensitive inhibition immunoassay for microcystin-LR. *Anal. Chim. Acta.* 521: 37-44.
2. An J., Carmichael W.W. (1994): Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularin. *Toxicon.* 32: 1495-1507.
3. Meriluoto J., Spoof L. (2005b): Extraction of microcystins in biomass filtered on glassfibre filters or in freeze-dried cyanobacterial biomass. U: *TOXIC: Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis.* Meriluoto J., Codd G.A., (eds). Åbo Akademi University Press, Turku. 69-71.
4. Chorus I., Bartram J. (1999): Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. E&FN Spon, WHO. London, England.
5. Chorus I., Cavalieri M. (2000): Cyanobacteria and algae. U: *Monitoring bathing waters,* Bartram, J., Rees, G. (editori). Taylor and Francis Group, London. 219-271.
6. Važić T. (2020): Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
7. Svirčev, Z., Baltić, V. (2011): Srpski vodič za cvetanje cijanobakterija. Institut za onkologiju Vojvodine- PMF, Novi Sad.
8. Svetska Zdravstvena Organizacija, SZO (1998): Guidelines for drinking- water quality. 2nd ed. Addendum to Vol. 2. Geneva.
9. Chorus I. (2012): Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt), Dessau-Roßlau, Germany.
10. Fawel J.K., Mitchell R.E, Everett D.J., Hill R.E. (1999): The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: I microcystin-LR. *Hum. Exp. Toxicol.* 18: 162-167.
11. Burch M., Humpage A. (2005): Australia: Regulation and management of cyanobacteria. U: *Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulation in different countries.* Chorus, I. (ed). Federal Environmental Agency, Berlin. 9-20.
12. Kouzminov A. (2005): New Zeland: Risk assessment, management and regulatory approach for cyanobacteria and cyanotoxins in drinking water. U: *Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulation in different countries.* Chorus, I. (ed.). Federal Environmental Agency, Berlin. 93-98.
13. Svetska Zdravstvena Organizacija, SZO (1999): Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Routledge, London and New York.
14. Svetska Zdravstvena Orgnizacija, SZO (2003): Guidelines for safe recreational water environments. Vol 1: Coastal and fresh waters. WHO, Geneva.
15. Svetska Zdravstvena Orgnizacija, SZO (2008): Guidelines for drinking-water quality: incorporating 1st and 2nd addenda. Vol.1. 3rd edition. Ženeva. Švajcarska.

10. CIJANOBAKTERIJE I CIJANOTOKSINI U TERESTRIČNIM EKOSISTEMIMA

10.1. Biološke pokorice u kojima dominiraju cijanobakterije

Prisustvo cijanobakterija u terestričnim ekosistemima dobro je poznato. Vlažno zemljište je prirodno stanište cijanobakterija gde one imaju višestruku ulogu, ali po svojoj brojnosti nisu dominantne u umerenim zonama gde se formira zemljište. One ulaze u sastav bioloških zemljišnih pokorica, pored zelenih algi, lišajeva, mahovina, mikrogljiva i bakterija. Filamentozne i jednoćelijske cijanobakterije koje formiraju biološke zemljišne pokorice proizvode omotače ili kapsule ekstracelularnih polisaharida. Ovi ugljeni hidrati pomažu u agregaciji zemljišta ili nekog drugog substrata cementiranjem čestica.

Dominantnost cijanobakterijskih pokorica je izražena u regionima gde vladaju manje ili više ekstremni uslovi, kao što su aridne i semi-aridne klimatske zone. U ovakvim sušnim i polusušnim predelima formiraju se pustinjske i lesne pokorice, mada se cijanobakterijske pokorice mogu uočiti i na izrazito slanim i hladnim mestima.

10.1.1. Cijanobakterije i cijanotoksini u pustinjskim biološkim pokoricama

Cijanobakterije su sastavni deo pustinjskih pokorica koje zauzimaju velike površine širom sveta. U aridnim sredinama, poput pustinje Gurbantunggut u Kini, cijanobakterije su dominantne vrste u ranim sukcesivnim fazama pokorica, dok u pustinjskim oblastima Persijskog zaliva cijanobakterije dominiraju u izrazito starim pokoricama i predstavljaju vrhunac vegetacije. Povećani procenat cijanobakterijskih vrsta, poput *Microcoleus vaginatus*, dovodi do povećanja debljine pokorica, površine pokrivena pokoricama, čvrstine pokorica i sadržaja hlorofila *a* u pokoricama. Infiltracija vode u pustinjskom pokrivaču mnogo je veća kada ima više biomase cijanobakterija u sastavu pokorice¹.

Cijanobakterije u pustinjskim ekosistemima, uglavnom vrste roda *Scytonema* i *Nostoc*, tolerantne su na ultravioletno (UV) zračenje, a razvile su i adaptivne mehanizme na temperaturne fluktuacije i smenu vlažno-suvih ciklusa. Imaju mogućnost da reverzibilno aktiviraju metabolizam, ograničavajući fotosintezu i rast za vreme vlažnih perioda kada ćelije bivaju rehidrirane. Tokom toplih i suvih perioda, ćelije ulaze u stanje mirovanja. Fotosistemi I i II se oštećuju usled jake svetlosti i suše, međutim oporavak je najčešće moguć usled rehidratacije, što je veoma bitno za njihovo opstajanje u ovakvim sredinama.

Iako cijanobakterije čine bitnu komponentu u pustinjским ekosistemima, rađeno je malo ekofizioloških istraživanja cijanobakterija, kao i pojave cijanotoksina u ovim sredinama. U pustinjским pokoricama Katara detektovani su mikrocistini, anatoksin-a(S) i BMAA, što govori o mogućnosti kontakta ljudi i životinja sa ovim toksinima². Četiri psa su ispoljila znake neurotoksičnosti nakon konzumiranja kišnice akumulirane u prirodnoj depresiji u pustinji u Kataru. Dva psa su pri tome uginula, a kao mogući uzrok se navodi trovanje anatoksin-a (S), s obzirom da je ovaj cijanotoksin otkriven u pustinjским pokoricama Katara. Ovu hipotezu potvrđuju i raniji nalazi koji ukazuju da je mikrocistin zaštićen od degradacije kada je inkapsuliran unutar osušenih *Microcystis* pokorica i da ponovno kvašenje ovih pokorica dovodi do brzog oslobađanja mikrocistina u okolnu vodu.

Cijanotoksini mogu dugo da opstanu u terestričnim ekosistemima. Poluživot mikrocistina u poljoprivrednom zemljištu može da traje od 6 do 18 dana. Mikrocistin je pronađen i u osušanim herbarskim primercima cijanobakterija, koje potiču iz vodenih i terestričnih sredina 11 država širom sveta, starih do 170 godina². Postojanost cijanotoksina u osušanim ćelijama cijanobakterija tokom dugog vremenskog perioda ukazuje na to da oni mogu biti otpušteni u zemljište nakon zalivanja, pogotovo kada se biomasa cijanobakterija koristi kao organsko đubrivo u nekim državama.

10.1.2. Značaj i uloga cijanobakterija u lesnim biološkim pokoricama

Biološke pokorice na lesnim površinama su nazvane biološke lesne pokorice³ (Slika 55). One se formiraju aktivnošću mikroorganizama, koji formiraju pokorice od čestica supstrata povezanih međusobno produkovanim metabolitima mikroorganizama⁴. Ove zajednice su visoko specijalizovane zajednice cijanobakterija, zelenih algi, lišajeva, mahovina, gljiva i bakterija.

Les je rasprostranjen širom sveta kao jedan homogeni, trošan, blago koherentan, fino-granuliran, bleožut vetrom nanošen sediment. Pokrivajući 10% Zemljine površine, les je najšire rasprostranjena sedimentna formacija u kvartaru³. Većina ovog, vetrom nanetog depozita je koncentrisana u polu-sušnim regionima unutrašnje Evroazije i stepskim predelima Evrope. Prostire se najviše u Srbiji, Mađarskoj, Ukrajini i Rusiji, kao i u Kini. U prethodnim definicijama lesa i tumačenjima njegovog nastanka, les je predstavljan kao eolski sediment. Međutim, formiranje lesnih naslaga je relativno složen proces i u stvaranju lesa postoji još neki faktor pored akumulacije eolske prašine. Proces taloženja uključuje interakciju između abiotičke i biotičke komponente. Pojam lesifikacije kao proces formiranja lesa integrisao je čitav niz događaja nakon taloženja čestica koji se odnose na prevođenje vetrom nanetog materijala u jasno definisanu strukturu sa klasičnim svojstvima lesa.



Slika 55. Biološke lesne pokorice u Vojvodini (ciglana u Rumi)

Osnovne komponente za nastanak lesa su: materijal (prašina), atmosferska cirkulacija (vetar) i odgovarajući uslovi sredine koji obezbeđuju pretvaranje nataloženog eolskog materijala u naslage lesa. Tradicionalno, specifični tipovi vegetacije su smatrani ključnim faktorom u hvatanju prašine i preduslovom za taloženje lesa u sušnim i polu-sušnim regionima, gde je deponovanje vodom zanemarljivo, a snaga vetra i dalje jaka. Pri takvim uslovima, kada vetar može da nanese čestice prašine, vetar isto tako može biti i glavna erozivna sila i dovesti do nestabilnosti sedimenta. Zanimljivo je da je upravo u vreme kada je vegetacija bila najslabije razvijena očuvan najdeblji evropski lesni depozit prošlog glacijala u severnoj Srbiji⁵, ukazujući da neki drugi faktor, osim vegetacije, ima ključnu ulogu u deponovanju vetrom nošene prašine. U Vojvodini, lesni profili mogu imati debljinu nekoliko desetina metara (Slika 56), a u Kini i više stotina metara (Slika 57).

Imajući u vidu da cijanobakterije, kao najdominantniji članovi lesnih pokorica, prekrivaju značajna lesna prostranstva i vertikalne lesne profile, njihovo prisustvo može imati velikog uticaja na formiranje i održivost ovog sedimenta. Sposobnost cijanobakterija da rastu fotoautotrofno i da fiksiraju atmosferski azot čini ih primarnim kolonizatorima lesnih površina. Uloga cijanobakterija u procesu lesifikacije je opisana u BLOCDUST modelu, a bazirana je na produkciji lepljivih polisaharida cijanobakterija i njihovoj ekskreciji u spoljašnju sredinu⁵.



Slika 56. Lesni profil u Vojvodini: Titelski breg



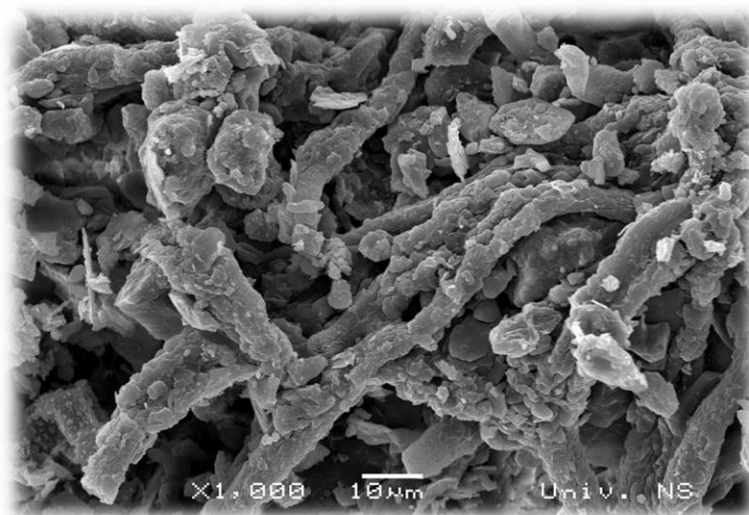
Slika 57. Centralno kineski lesni plato.

Zašto cijanobakterije u lesnim pokoricama proizvode polisaharide? U semi-aridnim uslovima, rehidracija, pre nego isušivanje dovodi do fatalnih posledica kod cijanobakterija. Da bi zaštitili ćelije tokom rehidracije i sprečili pucanje ćelijskog zida usled naglog prodora vode, različiti proteini i velike količine polisaharida (najčešće šećera trehaloze) se sintetišu radi stabilizacije fosfolipidnih dvoslojnih ćelijskih membrana. Izlučeni polisaharidi u spoljašnjoj sredini zadržavaju vodu i postepeno je propuštaju do ćelija cijanobakterija. Lepljivi omotači od polisaharida izlučeni oko ćelija cijanobakterija pomažu u agregaciji lesa hvatanjem i cementiranjem čestica iz vazduha u kompaktnu masu (Slika 58).

Tokom vlažne faze u semi-aridnim uslovima, cijanobakterijski izlučeni metaboliti nabreknu i do 13 puta više u odnosu na svoju suhu zapreminu, zaustavljajući protok vode kroz površinu zemljišta i zadržavajući je u polisaharidnom omotaču koji se pretvara u lepljiv površinski sloj⁶ (Slika 59).

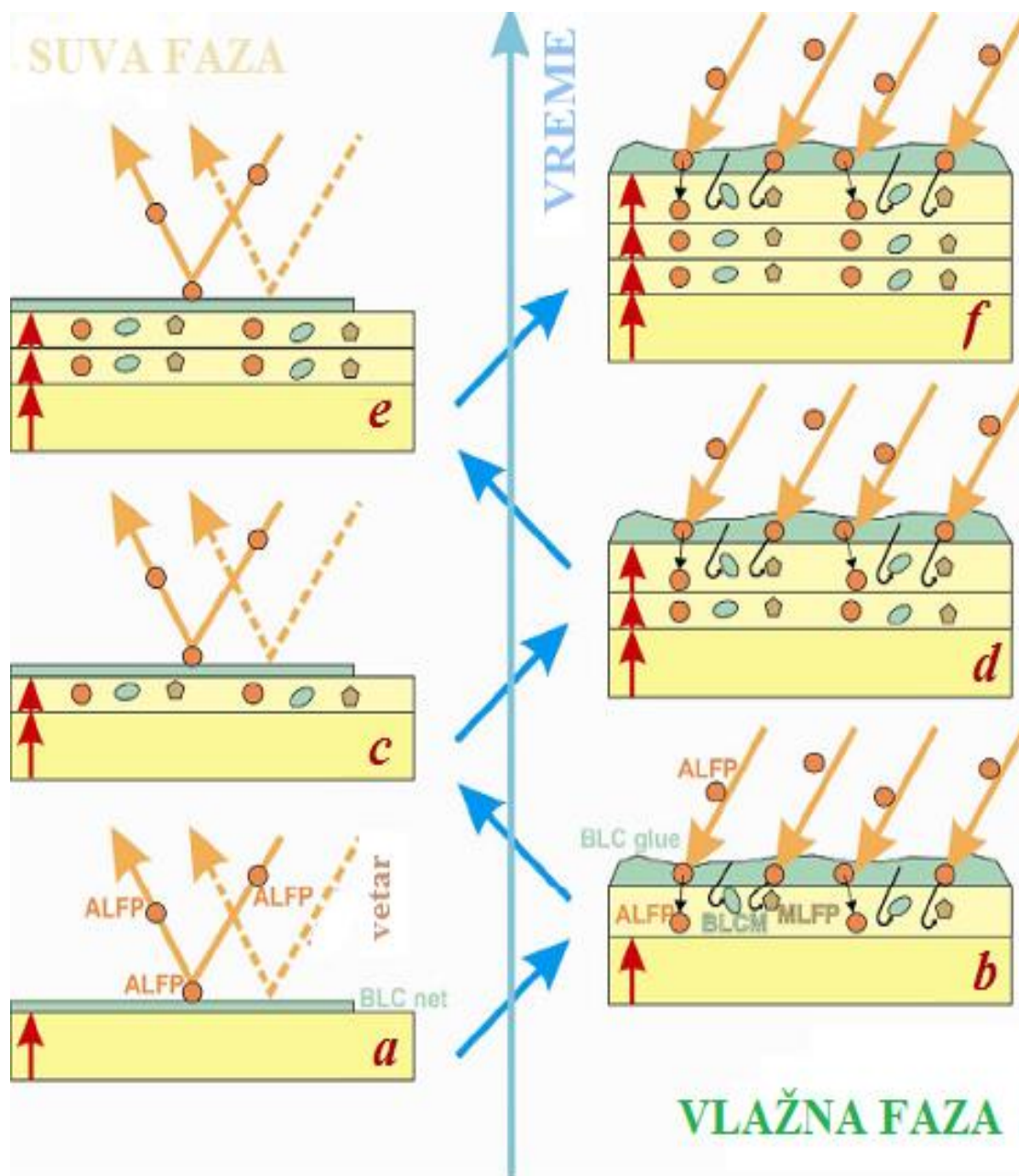


Slika 58. Sloj polisaharida izlučen od strane cijanobakterija u biološkim lesnim pokoricama



Slika 59. Hvatanje i akumulacija čestica iz vazduha od strane filamenata cijanobakterija u biološkim lesnim pokoricama

Na osnovu opisanih svojstava cijanobakterijske komponente u lesnim pokoricama razvijen je nov konceptualni pristup koji objašnjava biogenu osnovu procesa formiranja lesa kroz BLOCDUST model (Slika 60)⁵. Ovaj model pokazuje da je proces stvaranja i prezervacije lesa pod velikim uticajem metaboličke aktivnosti mikroorganizama lesne pokorice, uglavnom preko izlučenih polisaharida. Lepljivi polisaharidni materijal na površini, koji uglavnom luče cijanobakterije, može da zarobi čestice koje se nalaze suspendovane u atmosferi u vidu prašine (Slika 60b,d,f). Ovo sakupljanje čestica iz vazduha (ALFP) je deo životne strategije mikroorganizama u pokoricama kojom se povećava kapacitet zadržavanja vode i obezbeđuju neophodni minerali za dalji rast pokorica (Slika 59). Istovremeno, polisaharidi koje izlučuju cijanobakterije u pokoricama vezuju čestice unutar zone biološke lesne pokorice, formirajući kohezivnu pokoricu koja je otporna na eroziju vetra i vode tokom sušnih perioda (Slika 60a,c,e). Na taj način pokorice sprečavaju deflaciju deponovane prašine formirajući zaštitu od erozije. Metabolisane čestice (Slika 60-MLFP), zajedno sa metabolitima (Slika 60-BLCM) i neiskorišćenim česticama iz vazduha (Slika 60-ALFP) postaju gornji lesni sediment prekriven biološkom lesnom pokoricom (Slika 60c,e). Svake godine, uglavnom tokom vlažnih perioda, nagomilavanje prašine i čestica koje formiraju les veoma je intenzivno (Slika 60b,d,f). Tokom sušnih faza, biološka lesna pokorica postaje veoma stabilna i razvija otpornu površinu koja sprečava eroziju izazvanu vetrom i vodom (Slika 60a,c,e) (Slika 61). Period isušivanja podstiče stvaranje polisaharida cijanobakterija, koji služe kao zaštitni molekuli tokom stresa izazvanog nedostatkom vode i rehidratacijom. U prisustvu vode tokom vlažne faze (Slika 62), polisaharidi proizvedeni u tranziciji od vlažne do suve faze i akumulirani tokom suve faze postaju novi lepljivi sloj za akumulaciju prašine i pokreću novi ciklus stvaranja lesa (Slika 60b,d,f).



Slika 60. Model uticaja biološke lesne pokorice na proces formiranja lesa (BLOCDUST model - Biological LOess Crusts DUSt Trapping model): a) Početna sušna sezona: mreža biološke lesne pokorice sprečava akumulaciju (puna linija) i deflaciju (isprekidana linija); b) Početna vlažna sezona: polisaharidni lepak hvata prašinu iz vazduha; c i e) Sledeće sušne sezone: očuvanje nagomilanih slojeva iz ranijih vlažnih sezona, d i f) Sledeće vlažne sezone: formiranje novog polisaharidnog lepka povezanog sa nagomilavanjem prašine iz vazduha i transformacijom starijih slojeva akumulirane prašine na protolesne naslage. BLC - biološka lesna pokorica; BLC lepak - lepljivi polisaharidi produkovani od strane BLC mikroorganizama; ALFP - čestice iz vazduha koje formiraju les; MLFP - metabolisane čestice koje formiraju les; BLCM - metaboliti, biomarkeri⁵

10. CIJANOBAKTERIJE I CIJANOTOKSINI U TERESTRIČNIM EKOSISTEMIMA

Na Slici 61 su prikazane pokorice cijanobakterija (tokom suve faze) poreklom iz bioloških lesnih pokorica sa različitih lokaliteta Vojvodine, kultivisane u laboratorijskim uslovima.



Slika 61. Izolovane cijanobakterije iz bioloških lesnih pokorica sa različitih lokaliteta Vojvodine - suva faza u laboratorijskim uslovima

Na Slici 62 su prikazane pokorice cijanobakterija poreklom iz bioloških lesnih pokorica sa različitih lokaliteta Vojvodine, kultivisane tokom vlažne faze u laboratorijskim uslovima.



Slika 62. Izolovane cijanobakterije iz bioloških lesnih pokorica sa različitih lokaliteta Vojvodine - vlažna faza u laboratorijskim uslovima.

10.2. Rekultivacija oštećenih i aridnih površina

Prema Konvenciji Ujedinjenih nacija za borbu protiv dezertifikacije (UNCCD), dezertifikacija predstavlja „degradaciju zemljišta u suvim područjima koja je rezultat različitih faktora, uključujući klimatske promene i ljudske aktivnosti“⁷. Skoro trećini površine naše planete pretil dezertifikacija i taj rizik će se povećavati u budućnosti. Dezertifikacija dovodi do smanjenja vegetacionog pokrivača, plodnosti tla, biodiverziteta, kvaliteta i količine zaliha slatke vode, useva itd. Prema UNCCD, zbog degradacije zemljišta usled dezertifikacije svake godine se izgubi 24 milijarde tona plodnog tla. Mineralne i organske materije koje se prenose vetrom u obliku prašine sa područja zahvaćenih dezertifikacijom utiču i na vodene ekosisteme. Najizraženiji primer je Žuta reka u Kini, koja zbog velike količine nanosa lesne prašine sa Kineskog lesnog platoa ima žutu boju lesa i zbog povećanog sedimenta dovodi do čestih poplava.

Pored degradacije zemljišta usled dezertifikacije, veliki problem predstavljaju ogoljene površine lesnih platoa. Lesni sedimenti su uglavnom prisutni u mnogim polusušnim sredinama unutrašnje Evroazije. Oštećene i ogoljene lesne površine bez vegetacionog pokrivača potencijalno su glavni izvori prašine. Velike brzine vetra u tako poremećenim sredinama dovode do povećanja eolske erozivne aktivnosti. Veliki Kineski lesni plato je jedan od najrasprostranjenijih i najugroženijih lesnih regiona, gde je od 650.000 km² lesnog pokrivača oko 470.000 km² zahvaćeno potpunom erozijom. U takvim uslovima ne dolazi do zadržavanja vode na površini platoa i vegetacija je veoma oskudna. Zbog odsustva vegetacije, koja bi sprečavala eroziju, 13% područja visoravni je zahvaćeno erozijom većom od 10.000 t/km²/godišnje. Sva ta količina prašine se nanosi u Žutu reku, što predstavlja oko 17 milijardi tona sedimenta godišnje⁸.

Čestice prašine sa lesnih platoa (Slika 63) mogu uticati na zdravlje ljudi i životinja direktno ili indirektno ugrožavanjem vegetacije, ubrzavanjem eutrofizacije vodenih ekosistema stimulišući toksično cvetanje cijanobakterija, izazivanjem saobraćajnih nezgoda itd. Prašina uzrokuje uglavnom respiratorne, oftalmološke, srčane i kožne bolesti. Primećena je i veza između uslova života u regionima sa povećanom lesnom prašinom u vazduhu i karcinoma jednjaka, verovatno nastalog usled dugotrajnog unošenja čestica silicijum dioksida. Uzimajući u obzir ekonomske, socijalne, ekološke i zdravstvene probleme uzrokovane dezertifikacijom, pronalaženje prirodnog i efikasnog rešenja za obnovu i restoraciju lesnih površina, kao i drugih površina zahvaćenih dezertifikacijom, su od suštinske važnosti. Najčešće korišćena metoda za borbu protiv dezertifikacije i rekultivaciju degradiranih površina je bila obnova vegetacije. Međutim, ova metoda do sada nije donela očekivane rezultate. Jedan od glavnih razloga za neuspeh u projektima pošumljavanja je upotreba neprikladnih biljnih vrsta. Lesna prostranstva se formiraju u polu-sušnim predelima gde nema uslova za rast većine viših biljaka.

Imajući u vidu ekonomske, socijalne, zdravstvene i ekološke probleme izazvane dezertifikacijom i ogoljavanjem lesnih površina, neophodno je pronaći dugoročno prihvatljivo ekosistemsko rešenje koje prepoznaje prirodne procese i koristi autohtone organizme za stabilizaciju, restauraciju i rekultivaciju degradiranih površina.



Slika 63. Ogoljene površine lesnih sedimenata predstavljaju glavni izvor prašine (Luochuan Ksiefeng, Kina) (levo) i negativno utiču na vegetacijski pokrivač (Luochuan Ksiefeng, Kina) (desno)

Prema BLOCDUST hipotezi, opisanoj na početku poglavlja, jedno od prihvatljivih rešenja bi bila upotreba biološki lesnih pokorica i drugih terestričnih pokorica specifičnih za predele zahvaćene dezertifikacijom. Biološke pokorice utiču na poboljšanje plodnosti, povećanje stabilnosti tla, smanjenje erozije vodom i vetrom, povećanje infiltracije tla, odlaganje oticanja vode i obogaćivanje diverziteta terestričnih cijanobakterija, gljivica, bakterija i drugih mikroorganizama. Pokorice se razvijaju sukcesivno od onih u kojima dominiraju cijanobakterije do pokorica u kojima dominiraju lišajevi i mahovine. Međutim, proces prirodne stabilizacije pokorica i prirodne sukcesije mogao bi biti veoma dugotrajan i procenjuje se da može trajati i stotinama godina. Iz tog razloga, predlaže se potpomognuti razvoj pokorica i ubrzanje njihove sukcesije kao potencijalno rešenje za restauraciju i rekultivaciju lesa i degradiranih površina usled dezertifikacije. Pokazalo se da je uspešno uzgajanje pokorica kojima dominiraju cijanobakterije pod odgovarajućim uslovima okoline postignuto za samo nekoliko nedelja. Značaj cijanobakterija u biološkim pokoricama ogleda se u njihovoj sposobnosti da prežive i rastu u surovim uslovima životne sredine što im omogućavaju njihove specifičnosti: migracioni kapacitet, sposobnost preživljavanja suše i ekstremnih temperatura, proizvodnja UV zaštitnih pigmenata i proizvodnja egzopolisaharida (EPS). Prema BLOCDUST hipotezi posebno je naglašena uloga cijanobakterijskih EPS u formiranju lesnih sedimenata i stabilizaciji površine tih sedimenata⁹.

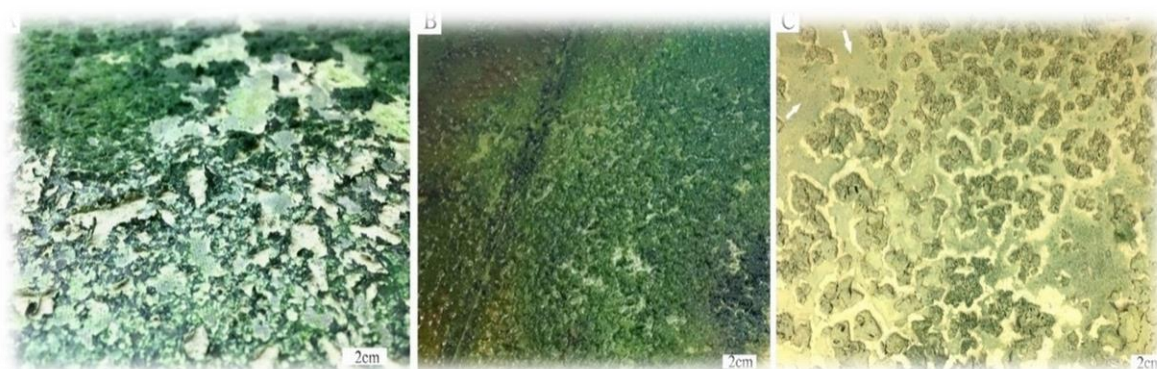
Iskustva iz Republike Srbije

U cilju iznalaženja rešenja za rekultivaciju oštećenih, degradiranih i dezertifikacijom zahvaćenih površina, u Republici Srbiji su započeti opsežni projekti bazirani na ulozi cijanobakterijskih pokorica u restoraciji navedenih predela. Glavni cilj projekata je da se ispita potencijal cijanobakterija za obnavljanje lesnih površina iniciranjem razvoja pokorica. Urađeni su brojni eksperimenti u kojima su proučavne cijanobakterijske osobine neophodne za uspešno i održivo uspostavljanje pokorica¹⁰. Detaljno je ispitana toksičnost izolovanih sojeva iz lesnih pokorica i proizvodnja biomase i polisaharida,

zatim interakcija cijanobakterija/polisaharida sa česticama prašine, kao i identifikacija procesa i mehanizama važnih za stabilizaciju lesnih čestica u njihovoj interakciji sa ćelijama, filamentima i kolonijama cijanobakterija.

Potencijal izolovanih sojeva cijanobakterija da zadrže i stabilizuju čestice prašine iz vazduha ispitivan je u posebno dizajniranim pravougaonim staklenim komorama sa površinom od 4 m². Komore se sastoje od dva dela. Prednji deo za simulaciju "olujne prašine" opremljen je ventilatorom koji formira brzinu vetra od 12 m/s i ima otvor za ubacivanje čestica prašine na vrhu komore. Ventilator usmerava čestice prema zadnjem delu koji se, u prvoj komori, koristi za proučavanje razvoja pokorica, zadržavanja čestica i mehanizama stabilizacije cijanobakterijskih pokorica i formiranog sedimenta. Druga komora se koristi kao kontrola, gde cijanobakterije nisu inokulisane u zadnjem delu kontrolne komore. Nakon što se cijanobakterijski biofilm razvio u prvoj komori tako da je u potpunosti pokrio zadnji deo, simulirane su oluje prašine u obe komore kako bi se ispitao BLOCDUST model zadržavanja i stabilizacije čestica. Eksperiment je trajao 10 meseci i za to vreme simulirano je 37 oluja sa česticama prašine. Oluje su simulirane svake treće nedelje, koristeći 400 grama finih čestica prašine. Zadnji delovi obe komore su zalivani vodom i sušeni na isti način. Uzorkovanje je organizovano nakon 10 meseci simuliranja polu-sušnih uslova sa povremenim zalivanjem, isušivanjem i olujama prašine, a u cilju ispitivanja rasta i razvoja pokorica u prvom biorektoru, i zadržavanja čestica prašine i stabilizacije sedimenta u oba bioreaktora.

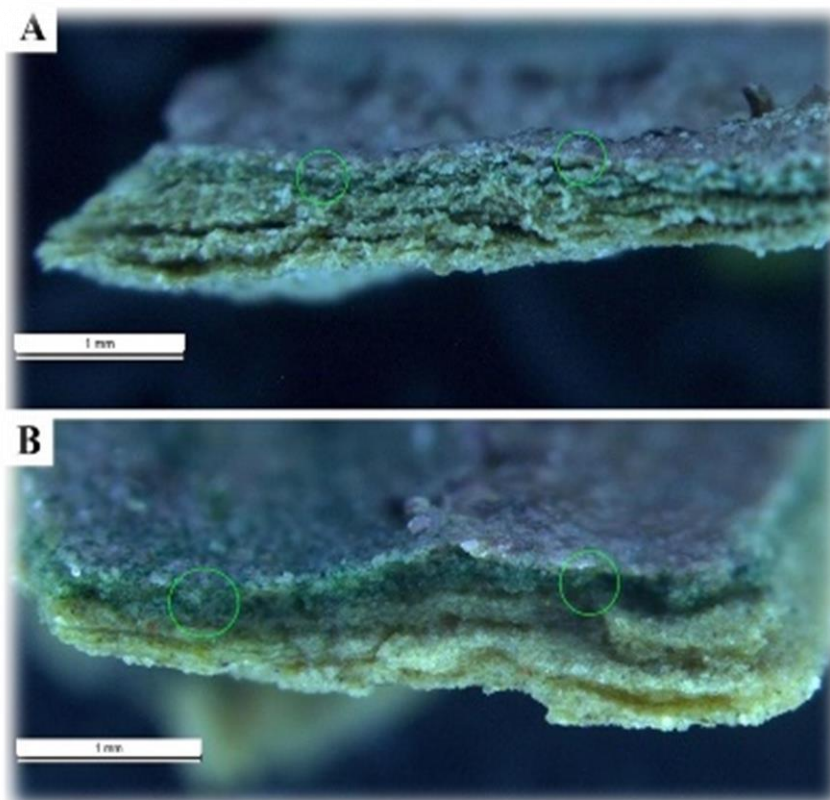
Rezultati su pokazali da je tokom simuliranih oluja prašine došlo do zadržavanja čestica na površini cijanobakterijskih kolonija. Slepljivanje čestica u eksperimentalnom biorektoru je bilo najintenzivnije tokom vlažne faze (nakon zalivanja). Tokom suve faze, čestice su se takođe zadržavale između cijanobakterijskih filamenata i kolonija formirajući očvrslu strukturu pokorica. Pokorice su se morfološki menjale tokom eksperimenta i dolazilo je do sukcesivnih promena posle sušnih (Slika 64a) i vlažnih perioda (Slika 64b). Vremenom je došlo do kolonizacije nepokrivenih delova komore glatkim biofilmom cijanobakterija (Slika 64c, označeno strelicama). Formirane pokorice su menjale svoj izgled u odnosu na dostupnost vode. Površina i zapremina pokorica se povećavala nakon vlaženja (Slika 64b).



Slika 64. Sukcesivne promene pokorica nakon smene sušne (a) i vlažne faze (b) sa kolonizacijom nepokrivenih delova (c)

Uočena je transformacija neujednačenog biološkog pokrivača u kontinuirani, deblji biološki pokrivač tamno zelene boje. Slabije kolonizovana površina sedimenta je nakon vlaženja postajala pokrivena tamnim i kontinualnim biofilmom. Na taj način je posle vlažnih perioda dolazilo da širenja površine pokrivena pokoricama. Tokom sušnih perioda zapremina pokorica se smanjivala, boja je postajala bleđa, a biološki pokrivač deponovanog lesnog sedimenta je postajao neujednačen (Slika 64a).

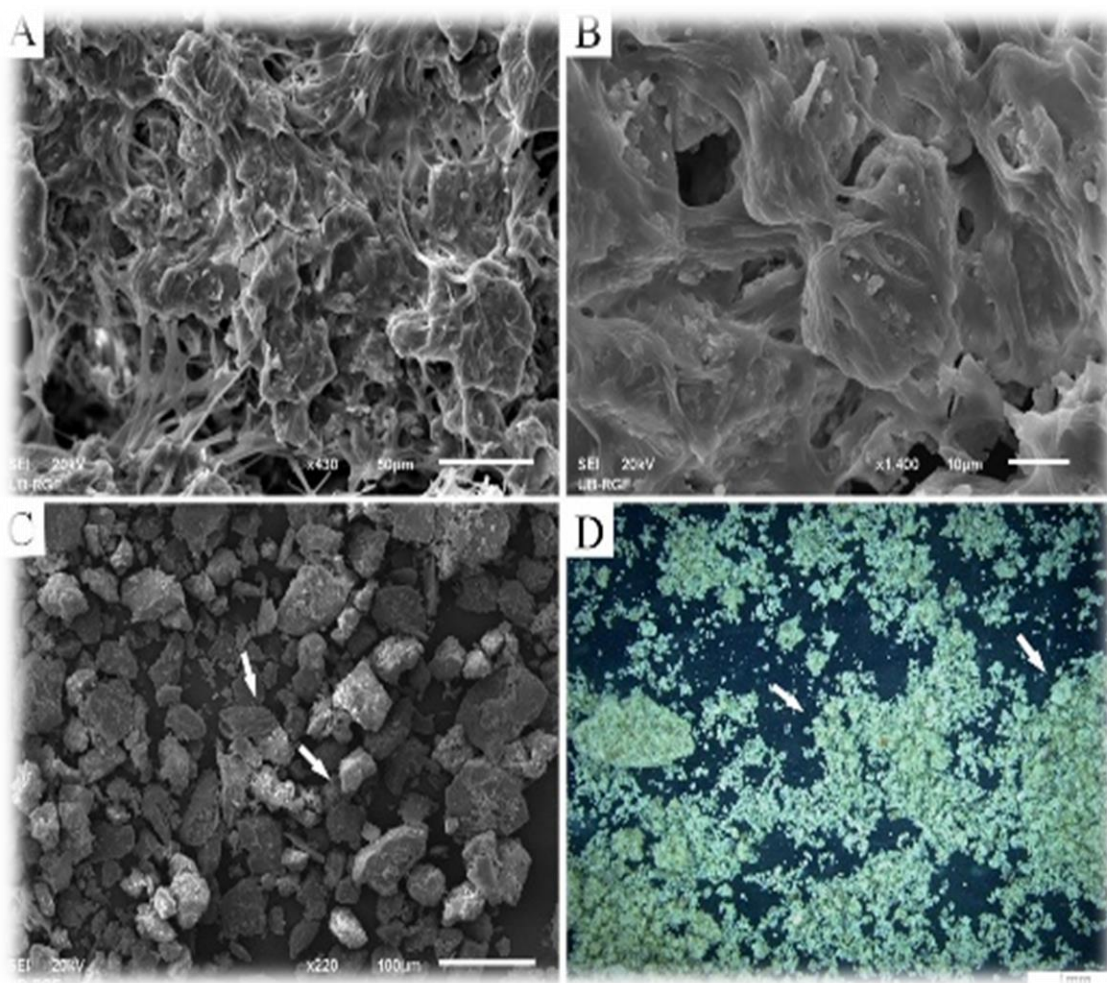
Poprečni presek pokorica u suvom stanju i nakon vlaženja se razlikuje u debljini površinskog, organskog sloja cijanobakterija (Slika 65).



Slika 65. Poprečni presek cijanobakterijskih pokorica u suvom stanju (a) i 15 minuta nakon vlaženja (b)¹¹

Vlaženjem je došlo do povećanja volumena cijanobakterijskog sloja (Slika 65b), a isušivanjem do smanjenja volumena pokorica (Slika 65a) ¹¹.

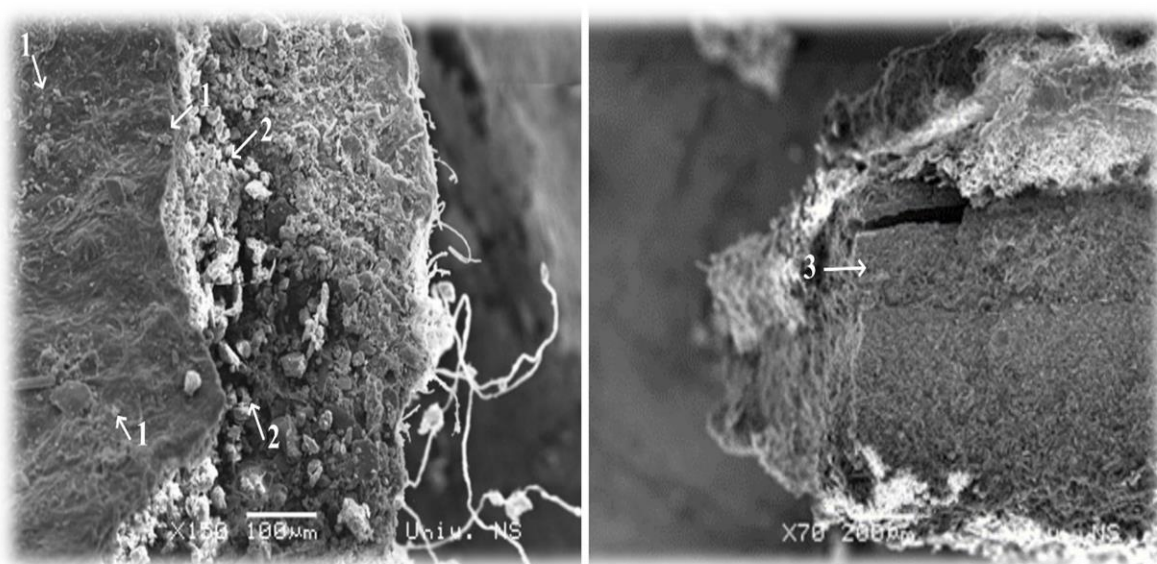
Analizom površinskog sloja pokorica elektronskom mikroskopijom, konstatovano je da kolonije cijanobakterija imobiliziraju čestice prašine okružujući ih filamentima i polisaharidima, vezujući i slepljujući čestice za ovaj koherentni organski sloj. Na taj način, čestice prašine koje su dospjele do cijanobakterijske pokorice su se zalepile za površinu pokorica (Slika 66a,b), za razliku od čestica iz kontrolne komore koje nisu stupile u interakciju sa podlogom na kojoj nije razvijen sloj pokorica (Slika 66c,d, strelice).



Slika 66. Razlika između kolonizovanih površina eksperimentalne komore (a, b) i nekolonizovanih površina kontrolne komore (c, d). Snimci sa elektronske mikroskopije (SEM) (a, b) pokazuju strukturu pokorica koja lepi čestice prašine iz vazduha u eksperimentalnoj komori za razliku od slabe agregacije čestica u kontrolnoj komori (c, d)

Akumulacija i stabilizacija čestica prašine bili su zapaženi u presecima pokorica (Slika 67). Stereomikroskopskim pregledom otkrivena je vertikalna slojevitost pokorica. Gornji deo pokorice se sastojao od slojeva kolonija živih cijanobakterija povezanih sa česticama

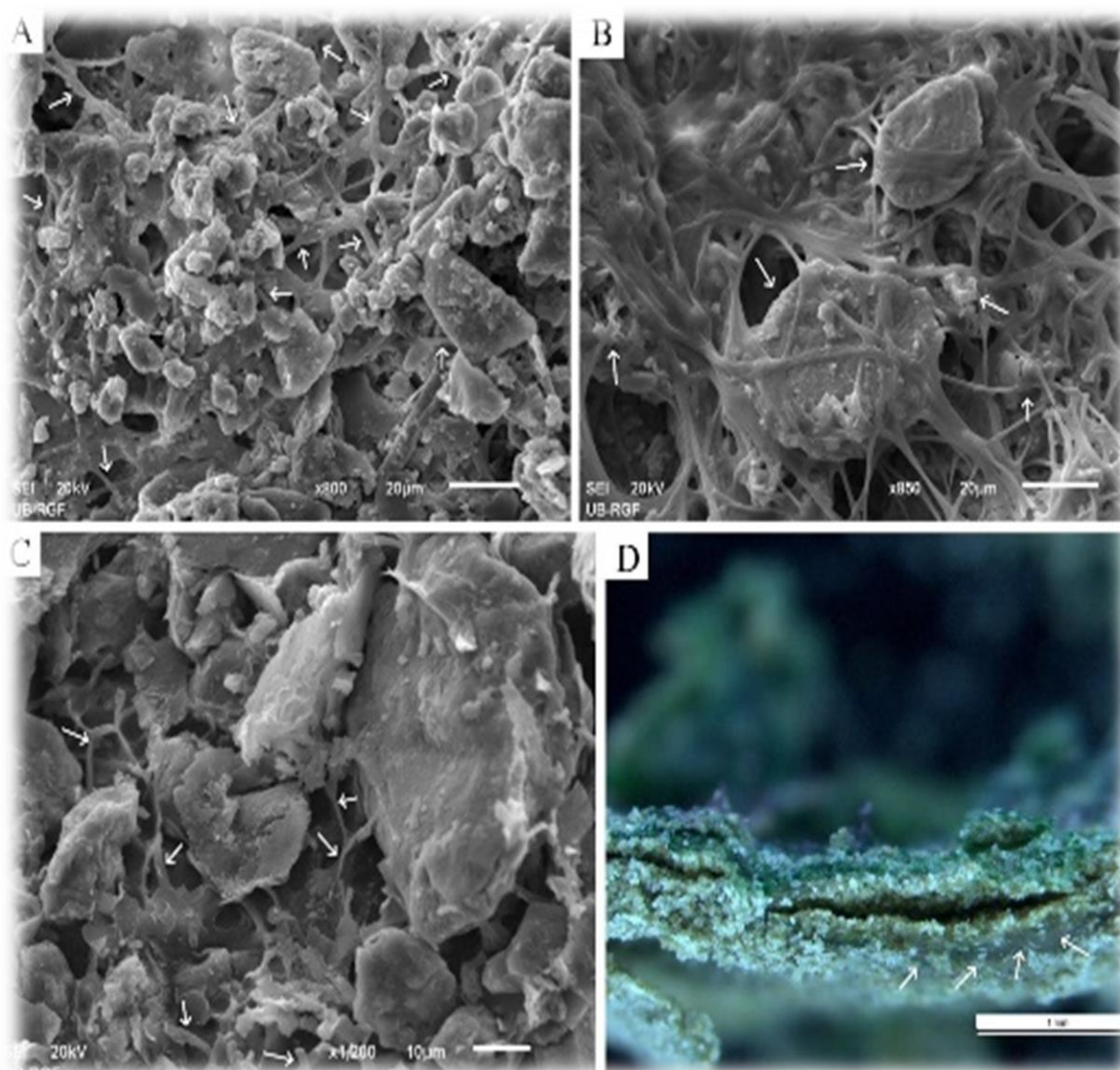
prašine, gde se zadržavaju i akumuliraju novodospele čestice. Ispod gornjeg dela nalaze se stariji slojevi koje čine stabilizovane lesne čestice i zaostali delimično mineralizovani egzopolisaharidi. Opisana slojevitost i nakupljanje i stabilizacija čestica su posledica cijanobakterijskog načina života. Tokom simuliranih oluja prašine, metabolički aktivne cijanobakterije gornjeg sloja pokorice imobilišu čestice prašine, što dovodi do zamračivanja sloja sa cijanobakterijama. Iz tog razloga dolazi do migracije ovih cijanobakterija prema izvoru svetlosti što ima za posledicu nakupljanje imobilisanih čestica u njihovim organskim metabolitima koje su ostavile za sobom. Rastući prema gore, cijanobakterije formiraju novu gornju koru pokorice, dok „stari“ egzopolisaharidi, ostali u dubljim slojevima, zajedno sa nagomilanim česticama formiraju stabilizovani sloj sedimenta (Slika 67).



Slika 67. Poprečni presek pokorice. Unutar pokorice se uočavaju tri sloja: jedan koji prikazuje imobilizaciju čestica površinskim kolonijama cijanobakterija (strelica 1, levo), drugi koji predstavlja akumulaciju čestica u organskom sloju cijanobakterija (strelica 2, levo), a treći pokazuje taloženje čestica ispod cijanobakterijske pokorice kao rezultat migracije cijanobakterija u gornje osvetljene slojeve (strelica 3, desno)

Rastući prema izvoru svetlosti, cijanobakterije akumuliraju prethodno imobilisane čestice prašine u svoj organski sloj, kao što je opisano. Cijanobakterijski filamenti i njihovi egzopolisaharidi protežući se između čestica prašine, imobilišu ih, predstavljajući „skelet“ bioloških pokorica (Slika 68a). Direktan kontakt cijanobakterijskih kolonija i njihovih egzopolisaharida sa česticama prašine dovodi do stvaranja organo-mineralnih agregata (Slika 68b) različitih veličina. Ovako imobilisane čestice u površinskom sloju bioloških pokorica su sačuvane i stabilizovane. Na taj način dolazi do akumulacije i stabilizacije čestica u procesu rekultivacije^{10,11}. Rast cijanobakterija dalje rezultira u taloženju akumuliranih čestica u podpovršinski sloj pokorica. Ove istaložene čestice su zaštićene

površinskim kolonijama cijanobakterija. Stabilizaciji ovih čestica značajno doprinose ostaci egzopolisaharidnog materijala (Slika 68c).

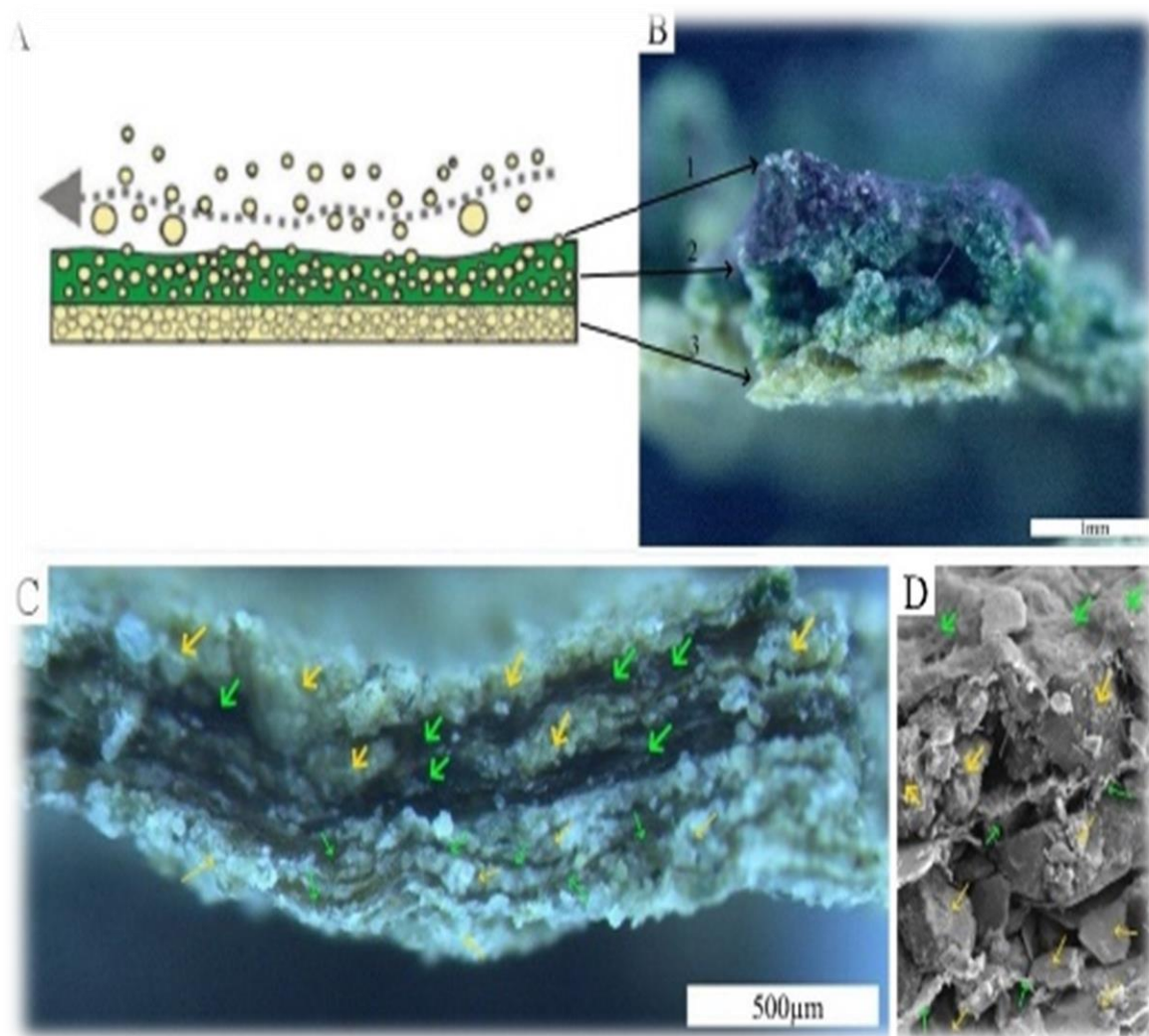


Slika 68. Stabilizacija čestica prašine. Cijanobakterijska mreža predstavlja „skelet“ površinskog sloja biološke pokorice (a, strelice). Direktni kontakt filamenata i egzopolisaharida sa česticama u formiranju organo-mineralnih agregata (b strelice). Zaostali egzopolisaharidi kao armatura u podpovršinskom sloju (c i d, strelice).

Migrirajući na površinu bioloških pokorica, cijanobakterijski filamenti ostavljaju svoj zaštitni egzopolisaharidni omotač. Ovi ostaci egzopolisaharida kasnije predstavljaju „armaturu“ podpovršinskog sloja biološke pokorice (Slika 68d).

Ispitivanje efikasnosti cijanobakterijskih pokorica u procesima restoracije i rekultivacije oštećenih i degradiranih površina pokazalo se veoma korisnim u eksperimentalnom dokazivanju BLOCDUST modela. Redovne simulacije oluja prašine rezultirale su

povećanjem debljine sloja istaloženih čestica uglavnom tokom vlažnih faza. U skladu sa BLOCDUST modelom (Slika 69) o formiranju i povećanju lesnog sedimenta, vezane i akumulirane čestice u površinskom sloju pokorice su migracijom cijanobakterija deponovane u podpovršinski sloj zajedno sa ostacima egzopolisaharidnog materijala. Periodično navejavanje i smena suvo-vlažnih uslova su doveli do izdvajanja više slojeva cijanobakterijskih nakupina i deponovanih čestica u podpovršinskom sloju¹¹, baš kao što je pretpostavljeno BLOCDUST modelom (Slika 60).



Slika 69. Eksperimentalni dokaz BLOCDUST hipoteze. Taloženje čestica prašine po BLOCDUST modelu (a) u poređenju sa taloženjem čestica prašine u eksperimentalnoj komori (b): vezivanje čestica prašine na površini lepljivog sloja pokorice (strelica 1), akumulacija (strelica 2) i deponovanje ispod biološkog pokrivača (strelica 3). Periodično navejavanje je rezultiralo izdvajanjem više slojeva cijanobakterijske biomase (c i d debela zelena strelica), vezanih i akumuliranih čestica prašine (c i d debela žuta strelica), egzopolisaharidnog materijala (c i d, tanka zelena strelica) i istaloženih čestica prašine (tanka žuta strelica).

Na opisan način se hiljadugodišnjim trajanjem smena sušnih i vlažnih perioda u semi-aridnim uslovima akumuliraju čestice prašine čineći sediment koji se naziva lesni sediment i pokriva više od 10% površine kopna na Zemlji, a u preseku se prepoznaje kao lesni odsek ili lesni profil (Slika 70).



Slika 70. Lesni profil u Vojvodini, ciglana u Rumi

Kao što je prikazano, interakcija između cijanobakterijskog biofilma i čestica prašine iz vazduha dovodi do stvaranja bioloških pokorica. Proizvod procesa opisanih u BLOCDUST konceptu nastaje međusobnim delovanjem biotičkih i abiotičkih komponenti u genezi lesa. Za opisanu zajednicu koja nastaje pri procesu lesifikacije predložen je novi termin - sinergoza⁹. Sinergoza je specifičan, održiv odnos između određenih biotičkih i abiotičkih komponenti koje se nalaze u direktnom kontaktu i koje „imaju koristi“ jedna od drugih. Sinergoza je zamišljena kao bio-abioza i opisuje produktivnu efikasnost živih i neživih delova prirode kada oni „rade“ zajedno. Predstavlja blisku, dugoročnu, produktivnu, održivu i korisnu interakciju između biotičkih i abiotičkih komponenta povezanih u fizičku asocijaciju. U tom smislu, paralelno i istovremeno postojanje cijanobakterijskih pokorica i čestica donetih iz vazduha, pri čemu nastaje poseban supstrat je vrsta sinergoze. U sinergističkom odnosu cijanobakterija i čestica prašine dolazi do imobilizacije čestica formiranjem organomineralnih struktura u kontaktnoj zoni između polisaharida i čestica prašine. „Zajedničkim radom“ na ovaj način, cijanobakterijske pokorice, oštećeni supstrat i čestice donete vetrom, vremenom postaju stabilizovane sedimentne naslage koje se održavaju i šire kao posledica sinergističke interakcije. Uspešna sinergoza podrazumeva uspešnu restoraciju, rekultivaciju i ekosistemsko rešenje u borbi protiv dezertifikacije.

10.3. Biomarkeri cijanobakterija u paleoklimatskoj rekonstrukciji

10.3.1. Šta su biomarkeri u paleoklimatskoj rekonstrukciji?

Biomarkeri u paleoklimatskoj rekonstrukciji su fosilizovani organski molekuli (najčešće lipidi i pigmenti) koji predstavljaju arhivu informacija o drevnim zajednicama očuvanim u sedimentnim slojevima. Ukoliko su ova jedinjenja specifična i hemijski stabilna tako da ostaju nepromenjena u prirodi ili se u dužem vremenskom periodu menjaju u predvidive oblike, možemo ih smatrati dobrim biomarkerima sa aplikativnim značajem u rekonstrukciji paleoklimatskih uslova³. Specifičnost biomarkera se odnosi na prisustvo samo kod pojedinih taksona i kao takvi imaju informativni karakter vezan za ekofiziologiju producenata. Biomarkeri u geološkim istraživanjima su korisni jer predstavljaju zapise organskih molekula produkovanih biološkom aktivnošću organizama, kao što su grupe algi, bakterija i cijanobakterija, koji ne ostavljaju vidljive ostatke. Ukoliko su jedinjenja dovoljno otporna na degradaciju i mineralizaciju, ona ostaju očuvana u sedimentu i u funkciji biomarkera mogu biti ekstrahovana i analizirana iz uzorka kako bi se rekonstruisale promene u vegetaciji ili bakterijskim zajednicama tokom prošlosti. Oni ukazuju da li su u ispitivanom uzorku bili prisutni organizmi za koje su pronađeni biomarkeri specifični. Biomarkeri se mogu smatrati i molekularnim fosilima¹⁴. Pružaju mogućnost da se utvrdi mikrobijalno poreklo organske materije, informacije o metabolizmu, fiziologiji, taksonomiji i ekologiji organizama prisutnih u periodu taloženja, kao i informacije o očuvanju ovih zapisa tokom geoloških perioda.

Istraživanja prošlosti Zemlje u smislu evolucije živog sveta i razumevanja promena ekoloških faktora su oduvek privlačila pažnju naučnika širom sveta iz različitih oblasti. Paleoklimatska rekonstrukcija je naučna disciplina koja kombinuje analitičke metode iz nekoliko različitih polja uključujući geohemijska i biohemijska istraživanja, paleontologiju, sedimentologiju, mineralogiju itd. u svrhu istraživanja klimatskih uslova koji su vladali u prošlosti. Razumevanje dugoročnih klimatskih promena zahteva razmatranje prostornog i vremenskog aspekta klimatske dinamike. Kako bi interpretirali klimatske uslove iz prošlosti naučnici koriste razne indikatore koji sadrže očuvane fizičke karakteristike sredine, a čiji nastanak zavisi od preovlađujućih klimatskih uslova.

10.3.2. Biomarkeri cijanobakterija

Veruje se da je specifična metabolička "plastičnost" cijanobakterija jedna od esencijalnih osobina zbog koje su ovi mikroorganizmi važan deo biosfere naše planete više od 3,5 milijarde godina. Smatra se da su se cijanobakterije uspešno oduprle intenzivnim

klimatskim promenama tokom geološke prošlosti i opstale milijardama godina zahvaljujući sposobnosti adaptacije na različite ekstremne uslove sredine, u čemu najvažniju ulogu imaju sekundarni metaboliti - cijanotoksini i pigmenti, među kojima su najznačajniji UV zaštitni pigmenti (scitonemin i mikosporini). Scitonemin i mikosporin pripadaju familiji stresom indukovanih metabolita, čija se uloga ogleda pre svega u obezbeđivanju rasta cijanobakterija i omogućavanju opstanka u sredinama izloženim jakim zračenju. Scitonemin i mikosporini su stabilni molekuli jer mogu ostati otporni na degradaciju duži vremenski period. Kako se mogu analizirati iz uzoraka fosilnih sedimenata, ovi molekuli su predloženi za validne biomarkere cijanobakterija u ekstremnim sredinama¹⁵. Upotreba cijanobakterijskih specifičnih, geološki stabilnih derivata – biomarkera, zajedno sa dostignućima iz drugih oblasti, može se koristiti za praćenje prisustva i ekofizioloških svojstava cijanobakterija u prošlosti.

Scitonemin je dimer indolne i fenolne subjedinice, molekularne težine 544 Da. Sintetiše se kao odgovor na izlaganje UV-A zracima i akumulira se unutar ekstracelularnog omotača ili sluzi koje izlučuju cijanobakterije. Na taj način se formira stabilan, zaštitni sloj koji apsorbuje čak 90% štetnog zračenja ($\lambda=384$ nm). Pigment može predstavljati i do 5% suve materije cijanobakterija. Uglavnom, visoka koncentracija scitonemina je karakteristika gornjih slojeva mulja i pokorica. S obzirom da je isključivo prisutan samo kod cijanobakterija može se koristiti kao njihov dijagnostički biomarker¹⁵. Zbog dugoročne stabilnosti strukture molekula scitonemina, ovaj pigment ima izuzetan potencijal da se koristi kao biomarker prilikom paleontoloških istraživanja.

Cijanobakterije poseduju i druge fotozaštitne pigmente - **mikosporine** koji takođe imaju sposobnost apsorpcije određenog spektralnog dela UV zraka. Cijanobakterije su najprimitivniji organizmi sposobni da sintetišu mikosporine. Osim kod cijanobakterija, mogu se naći u nekim taksonomski različitim organizmima izloženim jakim intenzitetu UV zračenja, uključujući marinske grupe heterotrofnih bakterija, gljive, retke mikroalge i makroalge. Mikosporin-prodružujuće cijanobakterije su česte u slanijim terestričnim ekosistemima. Mikosporini koji se nalaze u citoplazmi apsorbuju 10-26% UV-B zračenja, dok mikosporini koji su smešteni u ekstracelularnom glikanu apsorbuju oko 67% ovog zračenja. Utvrđeno je da mikosporini pružaju zaštitu od UV zračenja ne samo svojim producentima, već i primarnim i sekundarnim korisnicima kroz lance ishrane. Molekul mikosporina je po hemijskoj strukturi cikloheksanonski ili cikloheksaminski prsten konjugovan sa azotom koji je supstituent neke amino kiseline ili amino alkohola. Inkorporacijom različitih amino kiselina i amino-alkohola u strukturu mikosporina dobija se oko 20 različitih vrsta molekula mikosporina. Tako, na primer, razlikujemo mikosporin-aurin, mikosporin-glicin, mikosporin-glutaminska kiselina-glicin, mikosporin-metilamin-serin, mikosporin-glicin-valin itd.. Pored toga što sprečavaju mutacije u ćeliji zahvaljujući UV apsorpciji i stabilizaciji slobodnih radikala, oni su efikasni antioksidantni molekuli i

zahvaljujući svojoj hemijskoj strukturi stabilizuju slobodne radikale u ćeliji. Takođe povećavaju toleranciju cijanobakterijskih ćelija na toplotni stres, isušivanje i osmotski stres.

Pored scitonemina i mikosporina, **fikobilini** su važna grupa cijanobakterijskih metabolita, koji su jedinstveni među fotosintetičkim pigmentima jer su kovalentno vezani za fikobiliproteine. Fikobilini imaju ulogu pomoćnih, antena pigmenata. Uloga se sastoji u apsorbovanju onog dela svetlosne energije (500-600 nm) koju ne apsorbuju hlorofili. Ovo je njihova najvažnija biološka uloga jer u uslovima manje ili veće zasenčenosti i u uslovima smanjenog intenziteta i kvalitativno izmenjene svetlosti (npr. dublji slojevi vode) obezbeđuju uspešan opstanak cijanobakterija. Fikobiline čine tri glavne grupe: fikoeritrin, alofikocijanin i fikocijanin. Sve cijanobakterije i crvene alge sadrže alofikocijanin i fikocijanin, dok cijanobakterije sadrže i fikoeritrin. Iako je fikocijanin glavni fikobilin kod većine cijanobakterija, fikoeritrin i alofikocijanin se takođe mogu nalaziti u značajnim količinama kod pojedinih vrsta.

Biomarkeri jezerskih sedimenata

Cijanobakterije imaju kosmopolitsku distribuciju i rasprostranjene su u akvatičnim i terestričnim ekosistemima gde su izložene različitim ekstremnim uslovima spoljašnje sredine na koje su se adaptirale tokom evolucije.

Pored silikatnih algi, kao najčešće korišćenih bioindikatorskih organizama u akvatičnim sredinama, pigmenti cijanobakterija su takođe od interesa prilikom rekonstrukcije evolucije životne sredine tokom analize jezerskih i dubokomorskih sedimenata. Sedimentni fotosintetički pigmenti mogu pružiti pouzdane podatke o promenama u primarnoj produkciji i sastavu algalne zajednice u jezerima i morima, kao i o biotičkim i abiotičkim promenama u vodenoj sredini. Fosilni pigmenti iz jezerskih sedimenata su dobri parametri pri proceni ekološkog odgovora mikrobijalne zajednice jezera na klimatske i ekološke promene. Prisustvo mikosporina, kao specifičnih pigmenata cijanobakterija u jezerskim sedimentima ukazuje na mogućnost korišćenja ovih pigmenata kao indikatora intenziteta sunčevog zračenja i klimatskih promena u prošlosti. U marinskim sedimentima, mikosporini takođe predstavljaju jedinjenja na osnovu kojih je moguće izvršiti analizu promena ekoloških uslova u prošlosti. Prema scenarijima sa očekivanim porastom temperature vode i količine nutrijenata, promena klime će najverovatnije dovesti do promena u zajednicama fitoplanktona, u pravcu dominacije cijanobakterija. Očigledno je da će potreba za analizom biomarkera cijanobakterija u akvatičnim ekosistemima rasti u budućnosti.

Biomarkeri u terestričnim ekosistemima

Najveći broj primera o paleoklimatskoj rekonstrukciji je vezan za akvatične sedimente. Terestrični biomarkeri teško ostaju očuvani, bilo da je u pitanju vlaga koja doprinosi mikrobiološkoj razgradnji biomarkera u zemljištu ili je u pitanju prirodno nizak potencijal

fosilizacije terestričnih organizama. Pustinje su kritični krajnji članovi bioma tokom rekonstrukcije prošlosti koji se koriste kako bi se proširilo razumevanje paleoklimatskih promena, gde se istraživanja paleoklimatske rekonstrukcije svode uglavnom na fizičke nalaze. Lesni sedimenti predstavljaju jedinstvene terestrične arhive, koji su stekli veliki značaj u rekonstrukciji klime u prošlosti nakon pionirskih istraživanja sedamdesetih godina prošlog veka. Nakon početnih istraživanja, les se pokazao kao pouzdan arhiv paleoklimatskih i paleoekoloških uslova tokom kvartara: spada među najbolje očuvane, najdetaljnije, jedinstvene, kontinuirane terestrične arhive lokalnih paleoklimatskih uslova i ekoloških promena, koji dopiru do 2,5 miliona godina u prošlost, zbog čega nose naziv "lesni klimatski registar"¹⁶. Činjenica da les pokriva oko 10% Zemljine površine ga čini još značajnijim izvorom paleoekoloških i paleoklimatskih informacija. Iako često nije moguće postići istu vremensku rezoluciju kao pri korišćenju jezerskih i marinskih sedimenata u paleoklimatskoj rekonstrukciji, indikatori poreklom iz lesa su potencijalno još direktniji način izrade paleoklimatske rekonstrukcije, jer je les u direktnom kontaktu sa atmosferskim i klimatskim uslovima u periodu njegovog formiranja¹⁷.

Dobro razvijene lesne sekvence odražavaju promene u akumulaciji lesnih sedimenata i stoga se koriste kao merilo za određivanje geološke prošlosti, što je važan parametar pri klimatskom modelovanju. Naučnici bušenjem lesnog sedimenta skupljaju uzorke sa različitih dubina koji predstavljaju različite vremenske slojeve lesa formirane zavisno od vladajućih klimatskih faktora. Ovi slojevi sadrže čestice prašine, izotope kiseonika i različite organske molekule, koji se razlikuju tokom vremena u zavisnosti od okolne sredine. Zbog toga se elementi ovih sedimenata mogu koristiti za tumačenje klime u prošlosti. Posebna prednost lesa u odnosu na ostale kvartarne sedimente je što može da se direktno odredi starost ispitivanog sloja, korišćenjem metode luminescencije¹⁸.

S obzirom da je mineralni i organski sastav lesnih pokorica pod veoma velikim uticajem lokalnih promena, organizmi prisutni u biološkoj lesnoj pokorici odražavaju klimatske uslove datog područja³. Cijanobakterije su prvi kolonizatori i najvažnije komponente lesnih pokorica u kojima formiraju velike populacije⁵. Kako su cijanobakterije po BLOCDUST hipotezi krucijalni činilac prilikom formiranja lesa odlični su kandidati za korišćenje u paleoklimatskoj rekonstrukciji.

Cijanobakterije u pokoricama izlučuju pigmente za zaštitu od UV zračenja. Kao vrlo stabilni molekuli, ti pigmenti se mogu registrovati u fosilnim tragovima¹². Takođe, cijanobakterije u pokoricama iz Katara² i iz Irana¹³ imaju potencijal za produkciju cijanotoksina u aridnim i semi-aridnim uslovima. Pigmenti i toksini cijanobakterija prisutni u biološkim lesnim pokoricama mogu predstavljati potencijalne biomarkere cijanobakterija i imati veoma značajnu ulogu u paleoklimatskoj rekonstrukciji. Upotrebom sekundarnih metabolita cijanobakterija kao biomarkera u lesnim sedimentima pruža se mogućnost interpretacije klimatskih uslova koji su vladali u prošlosti u relativnoj skali. To znači da količina nekog

biomarkera ne definiše apsolutne vrednosti paleoekoloških i paleoklimatskih elemenata i faktora, nego omogućava poređenje ispitivanog parametra iz različitih vremenskih zona i perioda. Otkrićem velike koncentracije određenog metabolita moglo bi se govoriti da li su u određenom delu vremenske skale vladali uslovi visoke temperature ili je sredina bila baznija, sa izraženijim sunčevim i UV zračenjem ili sa većom količinom organskih materija u poređenju sa istim tim faktorima iz drugih vremenskih intervala. Izuzetno visoka zastupljenost određenog sekundarnog metabolita može ukazati na postojanje naglih stresnih promena u ekološkim uslovima. Analize novih potencijalnih biomarkera cijanobakterija, pre svega zaštitnih pigmentata i cijanotoksina, se mogu smatrati značajnim pomakom u paleoklimatskoj rekonstrukciji i paleoekološkoj interpretaciji „zapisa“ iz lesnih sedimenata.

BLOCDUST model govori o formiranju lesa povezanim sa aktivnostima cijanobakterija i drugih mikroorganizama iz biološke lesne pokorice u kombinaciji sa smenom suvih i vlažnih perioda. Ovaj model ističe, pored eolskog i biogeno poreklo lesa i značajnu integralnu ulogu cijanobakterija u procesu lesifikacije. Proces stvaranja lesa je pod velikim uticajem metaboličke aktivnosti cijanobakterija uglavnom preko izlučenih polisaharida, koji imaju funkciju lepka dovodeći do akumulacije čestica iz atmosfere. Polisaharidi tokom sušnog perioda formiraju kohezivnu pokoricu otpornu na eroziju vetra i vode. Po nastupanju vlažnog perioda, polisaharidi proizvedeni u smeni suve i vlažne faze postaju novi lepljivi sloj za vezivanje prašine i tako pokreću novi ciklus stvaranja lesa.

Proizvod procesa opisanih u BLOCDUST konceptu nastaje međusobnim delovanjem biotičkih i abiotičkih komponenti u genezi lesa. Za opisanu zajednicu koja nastaje pri procesu lesifikacije predložen je novi termin - sinergoza. Sinergoza je specifičan, održiv odnos između određenih biotičkih i abiotičkih komponenti koje se nalaze u direktnom kontaktu i koje „imaju koristi“ jedne od drugih. Sinergoza je zamišljena kao bio-abioza i opisuje produktivnu efikasnost živih i neživih delova prirode kada oni „rade“ zajedno. Predstavlja blisku, dugoročnu, produktivnu, održivu i korisnu interakciju između biotičkih i abiotičkih komponentata povezanih u fizičku asocijaciju. U tom smislu, paralelno i istovremeno postojanje cijanobakterijskih pokorica i čestica donetih iz vazduha, pri čemu nastaje poseban supstrat je vrsta sinergoze.

Imajući u vidu ekonomske, socijalne, zdravstvene i ekološke probleme izazvane dezertifikacijom i ogoljavanjem lesnih površina, neophodno je pronaći dugoročno prihvatljivo ekosistemsko rešenje koje prepoznaje prirodne procese i koristi autohtone organizme za stabilizaciju, restauraciju i rekultivaciju degradiranih površina. Prema BLOCDUST hipotezi jedno od prihvatljivih rešenja bi bila upotreba

bioloških lesnih pokorica i drugih terestričnih pokorica specifičnih za predele zahvaćene dezertifikacijom.

Dosadašnja istraživanja predstavljaju dokaz BLOCDUST koncepta i napredak u razvoju strategije za borbu protiv dezertifikacije i primenu ideja rekultivacije i restoracije oštećenih površina u semi-aridnim uslovima, kao što su lesna prostranstva. U daljim fazama istraživanja je neophodno ispitati faktore koji utiču na razvoj pokorica u prirodnim uslovima. Na osnovu prirodnih procesa sukcesije, nakon inokulacije cijanobakterija, gornji sloj oštećenih i degradiranih površina postao bi održiv za druge organizme i polako se transformisao u plodniji ekosistem sprečavajući efekte degradacije i dezertifikacije. Razvoj biološke pokorice trajao bi sve dok se ne uspostavi klimaks zajednica u datim uslovima životne sredine. Dalji sukcesivni procesi mogu pretvoriti oštećenu površinu u stabilniju i produktivniju zajednicu sa vegetacijom.

Zbog svoje stabilnosti i specifičnosti, scitonemin i mikosporini se mogu smatrati pouzdanim pokazateljima nekadašnjeg prisustva cijanobakterija u sedimentima i mogu služiti kao dobri biomarkeri tokom paleoklimatskih studija u paleoekološkoj rekonstrukciji. Korišćenje ovih biomarkera vodilo bi ka boljem razumevanju promena uslova spoljašnje sredine u prošlosti kroz organsko-geohemijski pristup, što bi svakako doprinelo jasnijoj predikciji klimatskih promena u budućnosti.

Literatura:

1. Makhalayane T.P., Valverde A., Gunnigle E., Frossard A., Ramond J.P., Cowan D.A. (2015): Microbial ecology of hot desert edaphic systems. *FEMS Microb Ecol* 39:203–221.
2. Metcalf J.S., Richer R., Cox P.A., Codd G.A. (2012): Cyanotoxins in desert environments may present a risk to human health. *Science of the Total Environment* 421-422, 118-123.
3. Smalley I.J., Marković S.B., Svirčev Z. (2011): Loess is [almost totally formed by] the accumulation of dust. *Quaternary International* 240: 4-11.
4. Belnap J., Lange O.I. (Eds.) (2001): Biological soil crusts: structure, function, and management. *Ecological Studies* 150: 202-215.
5. Svirčev Z., Marković S.B., Stevens T., Codd G.A., Smalley I., Simeunović J., Obreht I., Dulić T., Pantelić D., Hambach U. (2013): Importance of biological loess crusts for loess formation in semi-arid environments. *Quaternary International* 296: 206- 215.

6. Campbell S.E. (1977): Desert Crust of Utah: an aridity adapted algal mat community. 16th Algal Symposium. Woods Hole, Massachusetts, pp. 11.
7. United Nations Convention to Combat Desertification (UNCCD). United Nations Convention to Combat Desertification in Those Countries Experiencing Serious Drought and/or Desertification Particularly in Africa; United Nations: Paris, France, 1994.
8. Shi H., Shao M. (2000): Soil and water loss from the Loess Plateau in China. *J. Arid Environ.* 45, 9–20.
9. Svirčev Z., Dulić T., Obreht I., Codd G.A., Lehmkuhl F., Marković S.B., Hambach U., Meriluoto J. (2019): Cyanobacteria and loess—an underestimated interaction. *Plant and Soil*, 439(1-2):293-308.
10. Palanački Malešević T., Dulić T., Obreht I., Trivunović Z., Marković R., Kostić B., Važić T., Meriluoto J., Svirčev Z. (2021): Cyanobacterial Potential for Restoration of Loess Surfaces through Artificially Induced Biocrusts. *Appl. Sci.* 11, 66.
11. Palanački Malešević T. (2021): Značaj i uloga terestričnih cijanobakterija u semi-aridnim uslovima. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
12. Pantelić D. (2017): Potencijal sekundarnih metabolita cijanobakterija kao biomarkera u paleoklimatskoj rekonstrukciji. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
13. Dulić T., Meriluoto J., Palanački-Malešević T., Gajić V., Važić T., Tokodi N., Obreht I., Kostić B., Kosijer P., Khormali F., Svirčev Z. (2017): Cyanobacterial diversity and toxicity of biocrusts from the Caspian Lowland loess deposits, North Iran. *Quaternary International* 429: 74-85.
14. Eglinton T.I., Eglinton G. (2008): Molecular proxies for paleoclimatology. *Earth and Planetary Science Letters* 275: 1-16.
15. Lalić D., Meriluoto J., Zorić M., Dulić T., Mirosavljević M., Župunski M., Svirčev Z. (2020): Potential of cyanobacterial secondary metabolites as biomarkers for paleoclimate reconstruction. *Catena* 185, 104283.
16. Goudie A. (2013): *Encyclopedia of Geomorphology*. Routledge press, ISBN 1134482760, 9781134482764, pp. 1-1200.
17. Sheldon N.D., Tabor N.J. (2009): Quantitative paleoenvironmental and paleoclimatic reconstruction using paleosols. *Earth-Science Reviews* 95(1-2): 1-52.
18. Muhs D.R. (2013): The geologic records of dust in the Quaternary. *Aeolian Research* 9: 3-48.

SADRŽAJ

<i>Predgovor</i>	1
------------------------	---

1. Opšte karakteristike cijanobakterija i algi	2
1.1. Morfološka organizacija talusa cijanobakterija i algi	2
1.2. Funkcionalna građa ćelija cijanobakterija i algi	4
1.2.1. Omotači ćelija	4
1.2.2. Jedro	6
1.2.3. Plastidi	7
1.2.4. Rezervna materija	11
1.2.5. Mitohondrije, peroksizomi i Goldži kompleks	11
1.2.6. Vakuole kod algi	12
1.2.7. Lokomotorne organele	12
1.3. Razmnožavanje algi	13
1.4. Ishrana algi	15
2. Sistematika cijanobakterija i algi	18
2.1. Razdeo Cyanobacteria (modro-zelene alge)	19
2.2. Razdeo Rhodophyta (crvene alge)	22
2.3. Razdeo Pyrrophyta (vatrene alge)	23
2.4. Razdeo Xanthophyta (žuto-zelene alge)	25
2.5. Razdeo Chrysophyta (zlatne alge)	26
2.6. Razdeo Bacillariophyta (silikatne alge, dijatomeje)	27
2.7. Razdeo Phaeophyta (mrke alge)	29
2.8. Razdeo Euglenophyta (euglenoidne alge)	30
2.9. Razdeo Chlorophyta (zelene alge)	31
2.10. Razdeo Charophyta (pršljenčice)	33
3. Kultivacija cijanobakterija i algi – kolekcije kultura	38
3.1. Kolekcije kultura cijanobakterija i algi	38
3.1.1. Uzorkovanje	38
3.1.2. Izolacija	39
3.1.3. Determinacija	40
3.1.4. Purifikacija (iščišćavanje)	40

3.1.5. Kultivacija i održavanje	41
3.1.6. Prezervacija - čuvanje kultura	44
3.2. Tipovi kultura cijanobakterija i algi i metode kultivacije	45
3.2.1. Šaržne kulture	45
3.2.2. Kontinualne kulture	48
3.2.3. Semi-kontinualne kulture	49
3.2.4. Parametri rasta kultura u kolekciji	49
3.3. Značaj formiranja kolekcija kultura	51
4. Produkti cijanobakterija i algi i njihova biotehnoška primena	53
4.1. Primena cijanobakterija i algi u ishrani	54
4.1.1. Cijanobakterije	54
4.1.2. Crvene alge	55
4.1.3. Mrke alge	56
4.1.4. Zelene alge	57
4.2. Bioaktivna jedinjenja cijanobakterija i algi i njihova primena u medicini, farmaciji i kozmetici	58
4.2.1. Antioksidativna jedinjenja poreklom iz algi	58
4.2.2. Antimikrobna jedinjenja poreklom iz algi	67
4.2.3. Antikancerogena (citotoksična) jedinjenja poreklom iz algi	75
4.2.4. Alge u kozmetici	79
5. Ekologija cijanobakterija i algi	85
5.1. Staništa cijanobakterija i algi	85
5.2. Ekološki faktori i alge	89
5.2.1. Temperatura	90
5.2.2. Svetlost	91
5.2.3. Dostupnost vode i osmotski pritisak	92
5.2.4. pH vrednost	93
5.3. Strategije preživljavanja cijanobakterija i algi u nepovoljnim uslovima	93
6. Cvetanje cijanobakterija	99

6.1. Prepoznavanje cvetanja cijanobakterija	99
6.2. Faktori koji utiču na pojavljivanje i trajanje cvetanja	101
6.3. Zašto je cvetanje cijanobakterija opasno?	102
6.4. Ekonomski aspekti procena štete izazvane cvetanjem cijanobakterija	104
6.5. Stanje u svetu	106
6.6. Iskustva iz Republike Srbije	107
7. Toksini cijanobakterija i načini njihovog delovanja	110
7.1. Osobine i uloga toksina cijanobakterija	110
7.2. Podele cijanotoksina i mehanizmi njihovog delovanja	111
7.2.1. Hepatotoksini	113
7.2.2. Neurotoksini	116
7.2.3. Dermatotoksini	119
7.2.4. Citotoksini	119
8. Putevi izloženosti ljudi cijanotoksinima	123
8.1. Unošenje cijanotoksina putem kontaminirane vode za piće	123
8.1.1. Akutno trovanje kod ljudi	124
8.1.2. Hronično unošenje kontaminirane vode za piće i epidemiološka istraživanja	130
8.2. Kožni kontakt, akutno unošenje ingestijom i inhalacija cijanotoksina tokom rekreativnih aktivnosti	138
8.2.1. Stanje u svetu	138
8.2.2. Iskustva iz Republike Srbije	140
8.3. Ishrana kontaminiranom ribom i ostalim vodenim organizmima	143
8.3.1. Stanje u svetu	144
8.3.2. Iskustva iz Republike Srbije	146
8.4. Navodnjavanje i ishrana biljkama koje su zalivane cvetajućom vodom	148
8.4.1. Stanje u svetu	149
8.4.2. Iskustva iz Republike Srbije	150
8.5. Cijanobakterijski dijetetski suplementi	150
8.5.1. Stanje u svetu	151
8.5.2. Iskustva iz Republike Srbije	151
8.6. Specijalni načini ekspozicije u klinikama za dijalizu	152

8.6.1. Stanje u svetu	152
8.6.2. Iskustva iz Republike Srbije	153
9. Mere predostrožnosti i kontrole zdravstvenog rizika od delovanja cijanotoksina	157
9.1. Metode detekcije cijanotoksina	157
9.1.1. Biološki testovi	157
9.1.2. Biohemijske metode	158
9.1.3. Fizičko-hemijske metode	159
9.2. Predlog mera upravljanja vodama za rekreaciju, vodosnadbevanje i navodnjavanje	160
9.3 informisanje javnosti i odgovarajućih institucija o zdravstvenim aspektima trovanja cijanotoksinima	166
9.4. Tolerantni unos cijanotoksina, predlozi svetske zdravstvene organizacije i iskustva iz sveta	171
9.4.1. Tolerantni (dozvoljeni) dnevni unos cijanotoksina	171
9.4.2. Stanje u svetu	172
9.4.3. Iskustva iz Republike Srbije	180
10. Cijanobakterije i cijanotoksini u terestričnim ekosistemima	183
10.1. Biološke pokorice u kojima dominiraju cijanobakterije	183
10.1.1. Cijanobakterije i cijanotoksini u pustinjskim biološkim pokoricama	183
10.1.2. Značaj i uloga cijanobakterija u lesnim biološkim pokoricama	184
10.2. Rekultivacija oštećenih i aridnih površina	191
10.3. Biomarkeri cijanobakterija u paleoklimatskoj rekonstrukciji	204
10.3.1. Šta su biomarkeri u paleoklimatskoj rekonstrukciji?	204
10.3.2. Biomarkeri cijanobakterija	204

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union



The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

Erasmus + Project No ECOBIAS_609967-EPP-1-2019-1-RS-EPPKA2-CBHE-JP
Development of master curricula in ecological monitoring and aquatic bioassessment for Western
Balkans HEIs