



مروری بر کاربرد بیوتکنولوژی بیوفیلم های سیانوباکتری ها

بهاره نوروژی*، نغمه داودزاده^۱، علیرضا چراغی^۱

^۱ گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۷

چکیده

در محیط طبیعی، آگزوپلی ساکاریدها، یک ویژگی معمول از بیوفیلم های میکروبی هستند و نقش کلیدی محافظتی و ساختاری ایفا می کنند و جزو اولین مشارکت کنندگان در سنتز آگزوپلی ساکاریدها هستند که ماتریکس پلیمری خارج سلولی را تشکیل می دهند و باعث تشکیل تجمع های میکروبی با سطوح مختلف پیچیدگی به نام بیوفیلم می شوند. سیانوباکتری ها، جزو اولین موجوداتی هستند که در محیط هایی با شرایط نه چندان مطلوب، مانند خاک های بیابانی و بسترهای سنگی و بدون پوشش، استقرار یافتند و با سنتز آگزوپلی ساکاریدها در ایجاد محیط هیدراته با استحکام ساختاری و همچنین حفاظت شیمیایی/فیزیکی در برابر عوامل تنش زای زنده و غیرزنده منجر به تشکیل بیوفیلم ها می شوند. با این حال، علی رغم نقش مهم آگزوپلی ساکارید های سیانوباکتری ها، بسیاری از جنبه های مربوط به نقش آن ها و ارتباط آن ها با عوامل زنده و غیرزنده، هنوز مشخص نشده است. به همین دلیل در این مقاله مروری با جستجوی آخرین مقالات نقش آن ها در حفاظت از اجتماع پوسته های میکروبی مورد بررسی قرار گرفته است.

کلید واژه ها: بیوفیلم، پوسته های میکروبی، سیانوباکتری ها، آگزوپلی ساکاریدها

* bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir

مقدمه

سیانوباکتری ها، موجوداتی هستند که ۲/۴ میلیارد سال پیش عامل رویداد بزرگ اکسیژنی شدند. این موجودات اولین تولیدکنندگان فتوسنتز اکسیژنی در زمین هستند، فرآیندی که منجر به تغییرات اساسی در جو زمین شد و در نهایت تکامل حیات را تحت تأثیر قرار داد. سیانوباکتری ها قادرند انرژی نور را به انرژی شیمیایی تبدیل کنند و در این فرآیند از آب به عنوان منبع الکترون استفاده کرده و اکسیژن آزاد کنند. این انرژی برای احیای دی اکسید کربن به قند در چرخه کالوین-بنسون-بشام (CBB)^۱ مصرف می شود که پایه حیات هتروتروف ها را تشکیل می دهد. علاوه بر این، توانایی بسیاری از گونه های سیانوباکتری در تثبیت نیتروژن یکی از ویژگی های بسیار جذاب و کاربردی در زمینه کودهای طبیعی برای کشاورزی است. با وجود اینکه تحقیقات بسیاری در مورد سیانوباکتری ها و توانایی های آنها انجام شده است، اما هنوز این مطالعات به طور گسترده، کاربردهای تجاری ندارند. یکی از مشکلات اصلی در کشت های سلولی سیانوباکتری ها محدودیت نور است که مانع از رسیدن آن به تراکم های سلولی بسیار بالا می شود (۱-۶).

سیانوباکتری ها همچنین حساسیت بسیار بالایی به ترکیبات شیمیایی مانند الکل ها و حلال های آلی دارند که این می تواند بر رشد و عملکرد آنها تأثیر بگذارد. علاوه بر این، سرعت رشد آنها از اشترشیاکلی کمتر است. با این حال، وقتی سیانوباکتری ها رشد می کنند، پایداری فوق العاده ای در مقابل قارچ ها و باکتری ها دارند و با تولید سلول های زیاد وارد فاز لگاریتمی می شوند، همین ویژگی ها موجب می شود تا از بیومس حاصله از فاز لگاریتمی برای خواص ضد میکروبی در حقیقت کاربردی مورد استفاده قرار گیرند (۷-۱۰).

علاوه بر این، سیانوباکتری ها نقش بسیار مهمی در جوامع میکروبی ساختاریافته ایفا می کنند. این موجودات کوچک از طریق فرآیند فتوسنتز قادر به تولید ترکیبات کربن آلی هستند. این ترکیبات به عنوان منبع انرژی برای بسیاری از دیگر موجودات در اکوسیستم عمل می کنند، به این ترتیب سیانوباکتری ها به حفظ تعادل اکولوژیکی کمک می کنند. توانایی ساخت مولکول های کربن آلی از منابع غیر آلی، سیانوباکتری ها را به تولیدکنندگان اولیه مهم، به ویژه در محیط های دریایی تبدیل می کند. بسیاری از گونه های موجود در این گروه بسیار متنوع از ارگانیسم ها، می توانند نیتروژن اتمسفر را تثبیت کنند (۱، ۱۰-۱۳).

سیانوباکتری ها به مورفولوژی های مختلف با فرم های تک سلولی و رشته ای مختلف تکامل یافته اند. به همان اندازه که مورفوتیپ های آنها متنوع هستند، گونه های زیست محیطی ای هستند که سیانوباکتری ها با موفقیت با آنها سازگار شده اند. این ها از اکوسیستم های مختلف خشکی در همه مناطق آب و هوایی به دستگاه های آبی مانند آب شیرین و شور می رسند و در محیط های متوسط و شدید به وفور یافت می شوند در نتیجه، آنها صفات متعددی برای شکوفایی در این شرایط متنوع ایجاد کرده اند. در طبیعت، سیانوباکتری ها به دو شکل رشد می کنند، یا آزادانه به حالت تعلیق یا چسبیده به یک سطح. در آب های آزاد بزرگ در اقیانوس ها، دریاچه ها و رودخانه ها، میلیاردها سلول به عنوان میکروب های پلانکتون زندگی می کنند (۱۴).

از سوی دیگر، در رسوبات و خاک ها، اغلب ساختارهای سه بعدی با تراکم سلولی بسیار بالا را تشکیل می دهند. برخی از سیانوباکتری ها به صورت گروهی در لایه های میکروبی زندگی می کنند. قدیمی ترین ساختارهای این نوع، استروماتولیت ها است که قدمتی حدود ۳/۵ میلیارد سال دارند و بنابراین یکی از قدیمی ترین اکوسیستم هایی را که می شناسیم نشان می دهند. در یک لایه میکروبی، میکروارگانیسم های مختلفی در ماتریکسی از مواد پلیمری خارج سلولی خود (EPSs)^۲ جا می گیرند که عمدتاً از

² Exopolysaccharides¹ Calvin-Benson-Bassham cycle

مختلط می پردازد. همچنین نوآوری های کلیدی و زمینه های کاربردی مختلف، از بیوتکنولوژی صنعتی تا تصفیه زیستی و کشاورزی را مورد بحث قرار می دهد و روندهای آینده در این حوزه پژوهشی را بررسی می کند (10).

بیوفیلم های سیانوباکتریایی

بیوفیلم ها معمولاً بسیار نازک تر و کم تنوع تر از لایه های میکروبی هستند، اما جدای از آن، محدودیت های مشابهی نیز دارند. سلول های تشکیل دهنده بیوفیلم لزوماً نیازی به اتصال به یک سطح ساکن ندارند. سلول ها اغلب به یکدیگر می چسبند و توده های سلولی را تشکیل می دهند که به عنوان بیوفیلم نیز طبقه بندی می شوند. اکثر میکروارگانیسم های شناخته شده می توانند بیوفیلم ها را رشد دهند و آن ها را به شکل حیاتی در زندگی ما تبدیل کنند (۱۹). محرک های اولیه که منجر به تشکیل بیوفیلم می شود، به سویه های خاص بستگی دارند. اغلب، تحرک سلولی یک عامل ضروری برای نزدیک کردن سلول ها به سطح اتصال است، اما ارگانیسم های غیر متحرک نیز وجود دارند که قادر به تشکیل بیوفیلم هستند. تماس اولیه با سطح اتصال با چسبندگی سلولی همراه است. در این مرحله، اتصال برگشت پذیر است و توسط فعل و انفعالات فیزیکی اساسی مانند نیروهای واندروالس اداره می شود. با این حال، زمانی که عوامل محیطی مناسب باشند، سلول به طور غیرقابل برگشتی از طریق پیوندهای شیمیایی با واسطه قسمت های مختلف می چسبند (۲۰، ۲۱). در این مرحله، فرآیندهای سلولی متعدد تحت تأثیر قرار می گیرند و صدها ژن به طور متفاوتی تنظیم می شوند که منجر به یک فنوتیپ بی حرکت می شود که به طور فعال EPS ترشح می کند و در نتیجه شروع به ساخت ساختارهای بزرگ و کوچک روی سطح می کند و پایداری بیوفیلم را تضمین می کند. یک بیوفیلم بالغ، از نظر فیزیکی، مانند یک مایع ویسکوالاستیک در حالت نیمه پایدار عمل می کند، جایی که پراکندگی و رشد مجدد بیوفیلم در حالت تعادل است. میکروب های تشکیل دهنده بیوفیلم در این مرحله فوق العاده

پلی ساکاریدها تشکیل شده اند که به عنوان یک سپر حفاظتی و انباری در مواقع سخت عمل می کنند و مسئول معماری و پایداری، این ساختارهای سه بعدی هستند و به تعاملات سلول-سلول و انتقال افقی ژن ها سرعت می بخشند. در این ساختارهای سه بعدی، واکنش های بیوشیمیایی تحت کنترل فعالیت های متابولیکی میکروب ها در حال شکل گیری است (۱۴، ۱۵).

پروکاریوت ها فراوان ترین گروه از ساکنان این لایه را تشکیل می دهند، از جمله فوتوتروف های اکسیژنی، فوتوتروف های بدون اکسیژن، باکتری های بنفش، باکتری های گوگرد سبز، هتروتروف های هوازی، باکتری های بی هوازی، باکتری های اکسیدکننده گوگرد، باکتری های کاهنده گوگرد (SRB)^۱ و متانوژنیک فتوستتر اکسیژنی که توسط سیانوباکتری ها انجام می شود، فرآیند اساسی مورد نیاز برای رشد این شبکه تغذیه ای است و همچنین کربن غیر آلی در طول روز به کربن آلی $[CH_2O]_n$ احیا می شود و برای تشکیل زیست توده استفاده می شود (۱۶-۱۹). در دوره های تاریک، سیانوباکتری ها کربن ذخیره شده را تنفس کرده و اکسیژن مصرف می کنند. در نتیجه، شرایط بدون اکسیژن ایجاد می شود که در آن سیانوباکتری ها ذخایر کربن خود را با تخمیر مصرف می کنند و باعث تشکیل الکل ها و اسیدهای آلی می شوند. علاوه بر ترشح فعال متابولیت ها یا اجزای سلولی که به دلیل لیز سلولی آزاد می شوند، این ترکیبات به عنوان مواد مغذی برای سایر ساکنان این لایه مانند متانوتروف ها یا باکتری های کاهنده سولفات عمل می کنند (۱۹).

بنابراین، این مقاله مروری یک نمای کلی از لایه های میکروبی و بیوفیلم های طبیعی را ارائه می دهد و بر نقش منحصربه فرد سیانوباکتری ها در جوامع میکروبی ساختاریافته تأکید کرده و همچنین به بررسی مختصر سیانوباکتری ها به عنوان بیوکاتالیزورهای سلولی کامل پرداخته و مزایا و چالش های استفاده از این میکروارگانیسم ها را مطرح می کند و در پایان، به بررسی کاربردهای بیوفیلم سیانوباکتری، از جمله کشت های تک گونه ای (اکسینیک) و کشت های

¹ sulfate-reducing bacteria

قوی هستند و مبارزه با آن‌ها دشوار است زیرا منجر به مشکلات زیادی به ویژه در زمینه پزشکی می‌شوند. با این حال، برای کاربردهای بیوتکنولوژیکی، این می‌تواند به یک مزیت تبدیل شود (۲۰-۲۳).

تولید سلول‌های خورشیدی زیستی به کمک سیانوباکتری‌ها

سیانوباکتری‌ها به دلیل قابلیت فتوسنتز، توانایی تبدیل نور خورشید به انرژی شیمیایی را دارند به همین دلیل آن‌ها به عنوان کارخانه‌های سلول خورشیدی عمل می‌کنند؛ به عبارت دیگر، آن‌ها می‌توانند نور خورشید را به ترکیبات کربن آلی تبدیل کنند که می‌تواند به عنوان منبع انرژی استفاده شود. این ویژگی باعث شده است که پژوهشگران به دنبال استفاده از سیانوباکتری‌ها در ساخت سلول‌های خورشیدی زیستی باشند. آن‌ها به دلیل توانایی‌شان در تبدیل CO₂ به ترکیبات آلی ارزشمند، به عنوان کارخانه‌های سلول خورشیدی زیستی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این موجودات ریز از طریق مسیرهای متابولیک خاص، قادر به تولید ترکیبات مختلفی هستند که می‌توانند در صنایع مختلف استفاده شوند. به طور خلاصه، سیانوباکتری‌ها می‌توانند CO₂ را به مواد مفیدی تبدیل کنند که می‌تواند به عنوان منابع انرژی و مواد اولیه در صنایع شیمیایی و دارویی استفاده شود (۲۲، ۲۳).

تولید تجاری فعلی مبتنی بر سیانوباکتری‌ها عمدتاً به محصولات به دست آمده از زیست توده، مانند رنگدانه‌ها یا

خود زیست توده که به عنوان مواد غذایی استفاده می‌شود، محدود می‌شود. سیانوباکتری‌ها برای ساخت محصولات مختلفی از گاز هیدروژن گرفته تا قندها، الکل‌ها، آلکان‌ها و متابولیت‌های ثانویه پیچیده‌تر مهندسی شده‌اند. علاوه بر این، محیط درون سلولی گیاه مانند سیانوباکتری‌ها، حاوی غشای تیلاکوئید و کاهش قدرت تأمین شده توسط فتوسنتز، امکان بیان آنزیم‌های گیاهی را در یک زمینه عملکردی مفید فراهم می‌کند. این ویژگی‌ها فرصت‌هایی را برای توسعه آینده سیانوباکتری‌ها به عنوان پلتفرم‌های جالب برای محصولات شیمیایی، از جمله سوخت‌های زیستی و پلاستیک‌های زیستی و همچنین داروها و پلیمرها باز می‌کند (۲، ۳، ۲۴، ۲۵).

علیرغم توسعه سریع در مهندسی سیانوباکتری‌ها به عنوان کارخانه‌های سلول سبز در دهه گذشته، بازده ناکافی نسبت فضا-زمان همچنان یکی از مشکلات اصلی برای ایجاد سیستم‌های تولیدی سیانوباکتریایی پایدار از نظر انرژی، محیط‌زیست و اقتصادی بوده است (۲۶). با این حال، باید توجه داشت که دانش ما در مورد متابولیسم سیانوباکتری‌ها هنوز از سطح موجودات مدل تثبیت‌شده‌ای مانند *E. coli* یا *Saccharomyces sp.* فاصله دارد. امروزه، مدل‌های متابولیکی سیانوباکتری‌ها برای چندین سویه مدل در حال توسعه هستند و با در دسترس شدن اطلاعات و داده‌های بیشتر (مانند omics) در آینده، افزایش بیشتری نیز خواهد یافت (۲۷، ۲۸).

جدول ۱. سیانوباکتری های تولید کننده بیوفیلم (۱۷)

حالت رشد	فیلد قابل استفاده	فوتوتروف ها در بیوفیلم های طبیعی	محیط زیست
بیوفیلم های میکسوتروفیک	تصفیه فاضلاب	<i>Aphanothece, Calothrix, Chakia, Chroococcus, Dichothrix, Entophysalis, Ewamiania, Gloeotheca, Leptolyngbya, Synechocystis, Phormidium, Pseudoanabaena, Rivularia, Schizothrix, Scytonema, Synechocystis, Synechococcus</i>	آب شیرین آبی
بیوفیلم های آکسنیک	تصفیه محیط زیست	<i>Aphanothece, Anabaena, Calothrix, Chlorogloeopsis, Chroococcus, Fischerella, Gloeotrichia, Halothece, Hydrocoleum, Leptolyngbya, Lyngbya, Microcoleus, Nodosilinea, Nodularia, Oscillatoria, Phormidium, Pleurocapsa, Schizothrix, Scytonema, Stigonema, Symploca, Synechocystis, Synechococcus, Trichocoleus, Trichodesmium</i>	آب دریا
بیوفیلم های میکسوتروفیک	تولید هیدروژن	<i>Hassallia, Tolypothrix, Scytonema, Lyngbya, Calothrix, Aulosira, Nostoc, Camptylonema, Dichothrix, Chlorogloeopsis, Westiellopsis, Leptolyngbya, Phormidium, REXIA, Symphyonemopsis, Scytonema, Haloleptolyngbya, Anabaena, Gloeobacter, Thermosynechococcus, Pseudanabaena, Anabaena, Calothrix, Gloeotrichia, Nostoc, Trichormus</i>	خشکی زی سطوح لبتیک خاک / ریزوسفر / فیلوس فر
بیوفیلم های آکسنیک	حذف فلزات سنگین برای کاربرد در زیست پالایی	<i>Chroococcales, Dichothrix, Leptolyngbya, Nostoc Tolypothrix-like, Tychonema-like</i>	شرایط فوق العاده
کشت های آکسنیک	EPS با فعالیت آنتی اکسیدانی و ظرفیت نگهداری آب بالا برای کاربرد در بخش های غذایی و دارویی	<i>Thermosynechococcus, Oscillatoria, Fischerella, Geitlerinema, Gloeomargarita, Halothece, Leptolyngbya, Synechococcus-like</i>	دریاچه های داغ
کشت های مصنوعی	تولید نفت خام زیستی	<i>Albertania, Chroococciopsis, Gloeocapsopsis, Phormidium, Microcoleus, Nostoc, Leptolyngbya, Scytonema, Calothrix, Oscillatoriales, Fischerella, Trichocoleus, Trichormus, Nodosilinea, Pseudoacaryochloris, Pseudophormidium, Schizothrix, Tolypothrix</i>	بیابان ها

کاربردهای بیوتکنولوژیکی بیوفیلم های سیانوباکتری

میکروب هایی که در بیوفیلم ها رشد می کنند، استحکام فوق العاده ای را در برابر طیف وسیعی از عوامل استرس محیطی نشان می دهند. دلایل این امر بسیار متنوع است و لایه

محافظ EPS نقش مهمی را ایفا می کند. علاوه بر این، بیوفیلم ها از سلول های زنده ای تشکیل شده اند که دائماً با تغییرات محیطی سازگار شده و خود را بازسازی می کنند. به دلیل ثبات و استحکام ذاتی، بیوفیلم ها برای فرآیندهای مستمر و اهداف کاربردی بلندمدت مانند پاک سازی زیستی یا کشاورزی مناسب هستند. سیانوباکتری ها موجودات

امیدوارکننده‌ای به عنوان کارخانه‌های سلولی برای تولید مواد شیمیایی با ارزش بالا، سوخت‌های زیستی و پلاستیک‌های زیستی در فرآیندهای تولید کربن خنثی هستند. با این حال، آن‌ها همچنین به خاطر نقش خود در تصفیه فاضلاب، تصفیه زیستی و کشاورزی توجه زیادی را به خود جلب می‌کنند. برای این کار معمولاً از بیوفیلم‌های ترکیبی استفاده می‌شود که متشکل از سیانوباکتری‌ها به همراه موجودات هتروتروف دیگر هستند. اینکه کدام یک از این گروه‌ها بر بیوفیلم اثر می‌گذارد به شرایط کشت بستگی دارد. سیانوباکتری‌ها زمانی بر بیوفیلم تسلط پیدا می‌کنند که فقط یک منبع کربن غیر آلی در دسترس باشد. سیانوباکتری‌ها اکسیژن را به کشت می‌رسانند که اغلب عامل محدودکننده در سیستم‌های بیوفیلم متشکل از سویه‌های تنفس هوازی است (29).

در سیستم‌های بیوفیلم سیانوباکتری، اکسیژن می‌تواند در EPS تا سطوح فوق اشباع، انباشته شود که حتی ممکن است سمی شود. با این حال، در سیستم‌هایی که واکنش‌های مصرف‌کننده اکسیژن ضروری است، این روش خوبی برای تأمین اکسیژن کافی به تمام لایه‌های بیوفیلم است. علاوه بر این، هتروتروف‌ها برای ایجاد و پایداری بیوفیلم‌ها بسیار ضروری هستند، همان‌طور که اخیراً برای تبدیل سیکلوهگزان به سیکلوهگزانول نشان داده شد (۲۹-۳۲).

عوامل اصلی که توسعه لایه‌های مختلف میکروبی را کنترل می‌کنند، نور و اکسیژن هستند که از لایه‌های بالایی به بستر نفوذ کرده و به تدریج در نواحی عمیق‌تر محدود می‌شوند. ترکیبات آلی کربنی از CO₂ توسط اعضای فوتوتوتروف ساخته شده و عمدتاً از طریق تخمیر یا لیز سلولی آزاد می‌شوند. سیانوباکتری‌ها می‌توانند به عنوان فیلم‌های چسبیده به سطح یا توده‌های سلولی شناور مورد استفاده قرار گیرند و اکسیژن، کربن و سایر مواد مغذی را برای شرکای هوازی و هتروتروف تأمین کنند (33).

بیوفیلم سیانوباکتری‌ها در بیوتکنولوژی کاربردهای متنوع و ارزشمندی دارند. هنگام استفاده از بیوفیلم‌های سیانوباکتری برای تولید، اغلب از کشت‌های مخلوط استفاده می‌شود. سیانوباکتری‌ها با موجودات بیوکاتالیستی

مانند *Pseudomonas* sp. جفت می‌شوند و برای تبدیل زیستی سیکلوهگزان به سیکلوهگزانول استفاده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که تشکیل بیوفیلم توسط *Synechocystis* PCC و سایر سیانوباکتری‌ها به شدت تحت تأثیر *Pseudomonas* sp. قرار می‌گیرد (34).

در حضور این ارگانیسم، سیانوباکتری‌های مختلف پوشش سطحی بسیار بهتر و پایداری بالاتری از خود نشان دادند. بیوفیلم‌ها برای محصولات گازی بسیار مناسب هستند زیرا جریان ثابت محصول گاز بسیار خالص را می‌توان به راحتی جمع‌آوری کرد. به عنوان مثال اتیلن با استفاده از *Synechocystis* sp. مصنوعی تولید شد (35).

همچنین علاوه بر سوخت‌های مبتنی بر کربن، برخی از سیانوباکتری‌ها می‌توانند هیدروژن مولکولی با انرژی ممتراکم تولید کنند. سیانوباکتری‌ها می‌توانند H₂ را از طریق بیوفوتولیز، با استفاده از فعالیت هیدروژناز جفت شده به زنجیره انتقال الکترون فوتوستری یا به عنوان محصول جانبی تثبیت نیتروژن تولید کنند. اخیراً تولید مداوم هیدروژن بیش از ۱۰ هفته در بیوفیلم‌های حاوی *Nostoc punctiforme* یا *Tolypothrix* spp تثبیت‌کننده نیتروژن نشان داده شده است (۲، ۹، ۳۶، ۳۷).

تشکیل بیوفیلم را می‌توان به چند مرحله تقسیم کرد. در ابتدا سلول‌های پلانکتونیک در ابتدای فرآیند حضور دارند که پس از آن اتصال سلول به سلول و شروع تولید EPS آغاز می‌شود. در مورد بیوفیلم‌های سطحی، فرآیند آماده‌سازی سطح پیش از چسبندگی برگشت‌پذیر سلول‌ها به سطح مورد نظر ایجاد می‌شود. چسبندگی سلولی در مراحل بعدی غیرقابل بازگشت می‌شود، EPS تولید می‌شود و بیوفیلم به میکرو کلونی تبدیل می‌شود. این میکرو کلونی‌ها به رشد خود ادامه داده و به یک ساختار سه‌بعدی بالغ تبدیل می‌شوند که دیگر ضخامت آن افزایش نمی‌یابد. علاوه بر استفاده از سلول‌های سیانوباکتری‌ها به عنوان بیوکاتالیست، EPS تولیدشده توسط بیوفیلم‌های سیانوباکتریایی به عنوان یک محصول کلیدی جذابیت بیشتری پیدا کرده‌اند و دارای کاربردهای متنوعی از صنایع مختلف هستند (۱۷).

و آبی، دیوارهای سنگی و بتنی و زهکش ها در بخش نیمه استوایی تایوان جمع آوری شده اند (۱۶).

بیوفیلم های فتوتروفیک و پوسته های بیولوژیکی خاک (BSCs¹) دو نمونه از پوسته های میکروبی هستند که آگزوپلی ساکارید های تولید شده توسط سیانوباکتری ها، نقش مهمی در ایجاد و نگهداری جمعیت آن ها، ایفا می کنند. در بیوفیلم های فتوتروفیک، جمعیت متصل به سطح، منبع انرژی و کربن خود را تقریباً به طور کامل از انرژی نور و تثبیت CO₂ ایجاد شده توسط سیانوباکتری ها به دست می آورند، در حالی که BSC ها از سطوح مختلف غذایی تشکیل شده و مشخصه آن ها، پیچیدگی بیشتر جمعیت آن ها است (۴۴). در بیوفیلم های فتوتروفیک، سیانوباکتری ها، معمولاً در سطح با سایر فتوتروف های تولید کننده اکسیژن (دیاتوم ها، ریز جلبک) یافت می شوند، در حالی که باکتری های سبز و بنفش گوگرد در لایه های پایین تر حضور داشته و با باکتری های شبه *Chloroflexi* مخلوط می شوند. بیوفیلم های فتوتروفیک می توانند روی بسترهای سنگی در حال رشد مشاهده شوند و آگزوپلی ساکارید های سیانوباکتری ها، نقش مهمی در محافظت از اشعه ماوراءبنفش و خشک سالی دارد. BSCs از یک قطعه فتوتروفیک متشکله از سیانوباکتری ها و یک قطعه هتروتروفیک که شامل میکروارگانیسم ها و باکتری های هتروتروف هستند، تشکیل شدند (۴۴). در مراحل بعد، قارچ ها، گل سنگ ها و جگرواش ها² می توانند مستقر شوند. کلونیزاسیون خاک توسط *Microcoleus vaginatus* به طور طبیعی در اولین مرحله تشکیل BSC ها مشاهده می شود که خود می تواند تا ۷۰ درصد از پوشش زنده موجود در خشکی را تشکیل دهد که کاربردهای فراوانی از لحاظ بیوتکنولوژی هم دارد. افزودن مصنوعی *M. vaginatus* به خاک های ضعیف از نظر مواد غذایی، رویکردی است که می تواند توسط این تکنیک های مبتنی بر تلقیح برای بازسازی زمین و مقابله با بیابان زایی، بسیار امیدوار کننده باشد. انجام مصنوعی فرایند کلونیزاسیون طبیعی سیانوباکتری ها، می تواند ایجاد BSC های القا شده را تحریک کند. محققان یافتند که

EPSs ظرفیت نگهداری آب و روغن رادارند و به عنوان جاذب فلزات سنگین شناخته شده اند. برخی از EPS های سیانوباکتری ها، پلی ساکارید های سولفات تولید می کنند که این پلی ساکارید های سولفات پیش تر تنها در حیوانات و جلبک های بالاتر گزارش شده بودند. بسته به منبع ارگانیسم، این پلی ساکارید های سولفات با نام های مختلفی شناخته می شوند. به عنوان مثال، در سیانوباکتری ها، *Synchan* برای *Arthrospir*، *Spirulan*، *Synechocystis* sp. یا *Platensis*، *Cyanoflan* برای *Cyanothece* sp. شناخته می شوند (۳۸-۴۰). پلی ساکارید های سولفات به دلیل اثرات مفید بر سلامت به عنوان مواد مغذی کاربردی نیز شناخته می شوند. این اثرات شامل فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد آلرژی، ضد HIV، ضد سرطان و ضد انعقاد خون است که آن ها را به عنوان مواد مغذی با پتانسیل بالا معرفی می کند و همچنین ترموفیل هایی مانند: *Leptolyngbya* sp. IkmLPT دارای پلی ساکارید های سولفات با عناصر پایدار در برابر دما هستند که این عناصر پایدار می توانند در کاربردهای مختلفی از جمله صنایع غذایی و دارویی مفید باشند. با این حال، تغییرات در شرایط کشت می تواند ترکیب EPS را تغییر دهد و بر وظایف EPS مثل جذب فلزات سنگین، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی تأثیر بگذارد (۴۱-۴۳).

نقش آگزوپلی ساکارید سیانوباکتریایی در حفظ ساختار بیوفیلم

آگزوپلی ساکارید های سیانوباکتری ها، نقش مهمی در حفاظت از اجتماع پوسته میکروبی ایفا می کنند. بیوفیلم میکروبی از میکروارگانیسم هایی که در یک سطح جامد در معرض هوا و یا آب زندگی می کنند، تشکیل شده است. آگزوپلی ساکارید های میکروبی موجود در بیوفیلم ها، نقش کلیدی در چسبندگی میکروبی و حفظ ساختار بیوفیلم بازی می کنند. بیوفیلم های سیانوباکتری هایی مانند *Phormidium*، *Lyngbya*، *Oscillatoria*، *Microcoleus*، *Scytonema* و *Aphanothece* تاکنون از سنگ های مرطوب

¹ Biological soil crusts (BSCs)

² Liverwort

گسترش پوسته‌های سیانوباکتری‌ها، بلافاصله پس از تلقیح اتفاق افتاده و فقط چند هفته طول می‌کشد. با این وجود، تشکیل ماتریکس پلیمریک خارج سلولی (EPM¹) در یک‌لایه زیستی، یک فرآیند پیچیده و طولانی‌تر است که نیاز به تکمیل جمعیت کلی پوسته دارد. اگرچه سیانوباکتری‌ها تولیدکننده‌های عمده² آگروپلی ساکاریدها هستند، دیاتوم‌ها و ریز جلبک‌ها نیز به فرآیند بیوسنتز کمک می‌کنند (۴۴). ریز جلبک‌ها در صورت حضور، تولیدکننده‌های مهمی هستند که نقش آن‌ها به عنوان موجودات تشکیل‌دهنده³ لایه‌های زیستی، گزارش شده است. گرچه سایر موجودات هم بر ویژگی‌های نهایی EPM تأثیر می‌گذارد، سیانوباکتری‌ها به عنوان مهم‌ترین مشارکت‌کننده‌های آگروپلی ساکاریدها، طی گسترش بیوفیلم هستند. به علت عدم وجود رنگ‌دانه‌های غربال‌کننده⁴ *M. vaginatus*، UV به‌طور طبیعی در زیر خاک یافت می‌شود و تنها زمان کوتاهی که خاک مرطوب می‌شود، بالا می‌آیند. برعکس، گونه‌هایی مانند *Nostoc* و *Scytonema* که رنگدانه‌های جذب‌کننده UV را سنتز می‌کنند، مستقیماً در سطح خاک یافت می‌شوند. در سوبستراهای زبر و خشن، ترشحات پلی‌ساکاریدی همراه با ریشه‌های میکروبی، نقش ساختاری ایفا کرده و یک شبکه منسجم را ایجاد می‌کنند (۱۵).

ریشه‌ها و ترشحات سیانوباکتری‌ها، نقش مهمی در ساختاربندی سیستم خلل و فرج خاک و سازمان‌دهی ذرات خاک دارند. وجود منافذ خاک به خواص فیزیکی و شیمیایی آگروپلی ساکاریدها بستگی دارد: هر چه پیچیدگی شبکه سیانوباکتری‌ها بیشتر باشد، تعداد بیشتری منفذ تولیدشده توسط میکروپ‌ها مشاهده می‌شود. بخش‌های نازک BSC‌ها موجب می‌شود تا ریشه‌های سیانوباکتری‌ها در فضای بین دانه‌ها، رشد کنند. زمانی که سیانوباکتری‌ها وجود نداشته باشند یا به‌طور پراکنده توزیع شده باشند، فاصله بین ذرات با ذرات ریز، پر می‌شود (۴۴). در لایه‌های پوسته²، سیانوباکتری‌ها، یک اجتماع پیوسته از ذرات ریزودرشت را

ایجاد می‌کنند، درحالی‌که زیر پوسته³، بیشتر حاوی منافذ بزرگ است. احتمالاً غلظت رس در لایه‌های حاوی سیانوباکتری‌ها، به این دلیل است که مواد مخاطی به راحتی به ذرات هوا متصل می‌شوند. مواد مغذی ماکرو با بار مثبت به رس و آگروپلی ساکاریدها متصل شده که باعث افزایش در دسترس بودن آن‌ها برای میکرو فلور می‌شود. همانند آنچه در محیط‌های دریایی رخ می‌دهد، در سیستم خاک نیز، آگروپلی ساکاریدها باعث بهبود سازمان‌دهی فضایی برای بهینه‌سازی برهمکنش‌های بین سلول‌ها و انتقال آب و مواد مغذی می‌شود (۴۱).

در محیط طبیعی، سیانوباکتری‌ها به صورت سلول‌های آزاد شناور یا به صورت سلول‌های متصل به سطح هستند. در هر یک از این دو حالت، ممکن است به دلیل تفاوت‌های فیزیکی و شیمیایی بستر، وقوع چرخه‌های خشکی و مرطوب و نوع و میزان محدودیت‌هایی که سلول‌ها با آن مواجه می‌شوند، تغییرات قابل توجهی رخ دهد. علاوه بر این، بعضی از گونه‌ها (مانند ریز جلبک‌ها، خزها) که قادر به استقرار در محیط نمی‌باشند، از حضور سیانوباکتری‌ها، سود می‌برند، زیرا سیانوباکتری‌ها قادر به ایجاد ریز محیط میکروبی⁴ در تنش‌های غیر زیستی هستند. سیانوباکتری‌ها به تنش‌های متابولیکی به خوبی پاسخ داده و قادر به مقابله با نوسانات رطوبت، نور، شوری و مواد مغذی هستند. به همین دلیل، بیوفیلم‌های تحت سلطه سیانوباکتری‌ها، حتی در صورت متفاوت بودن ساختار و ترکیب میکروبی، در تنوع شگفت‌انگیزی از سوبستراها مانند خاک‌های بیابانی، سنگ‌ها و حتی محیط‌های زیرزمینی⁵ کلنی می‌زنند

(31, 32).

یکی از قوی‌ترین شواهد در مورد نقش آگروپلی ساکاریدها، تحمل استرس کم آبی توسط *N. commune* است که توسط محققان ارائه شده است. آگروپلی ساکاریدهای سیانوباکتری‌ها همچنین برای سلول‌های اطراف جمعیت‌های میکروبی نیز مفید هستند. آگروپلی ساکاریدها برای ساختار بیوفیلم‌ها، ایجاد جریان‌های آب و مواد مغذی مفید هستند. علاوه بر این،

⁴ Microenvironments

⁵ Hypogaeal

¹ Extracellular polymeric matrix

² Crust

³ Sub-crust

گلی در برابر فرسایش شده و موجب غنی سازی رسوبات با مواد آلی و مواد مغذی می شوند (۱۹).

کاتیون های فلزی مانند Ca^{+2} ، Mg^{+2} و Fe^{+2} برای متابولیسم سلول ها و تثبیت ساختار بیوفیلم ها مهم هستند. درواقع، بیوفیلم ها، با برهمکنش های الکترواستاتیک تولید شده توسط کاتیون ها باعث انسجام می شوند. کاتیون ها به عنوان ارتباط دهنده^۱ تقاطعی در ماتریکس بیوفیلم عمل کرده و به عنوان کاتیون های سلولی و کو فاکتورهای آنزیم ها، باعث تحریک فرآیندهای اتصال در سلول های میکروبی می شوند (۴۶).

در مطالعات اخیر، سویه های *Gloeocapsa*، *Plectonema*، *Leptolyngbya* و *Gloeocapsosis* اپی لیتیک^۱، میل ترکیبی خوبی با Ca^{+2} ، Mg^{+2} و Fe^{+2} با اندازه های مختلف دارند. برهمکنش های سلول ها و فلزات به طور عمده توسط نیروهای یونی شکل می گیرد، مقدار خاصی از Ca^{+2} و Mg^{+2} حذف شده توسط سیانوباکتری ها (فلز حذف شده در هر گرم وزن خشک سلول) تا حدی با تراکم آنیونی سلول های کپسوله شده یا غلاف دار^۲ ارتباط دارد. کاتیون های دو ظرفیتی Ca^{+23} و Mg^{+2} پل های تقاطعی با قطعات باردار رشته های آگروپلی ساکاریدی تشکیل داده و باعث افزایش پیوستگی ترشحات می شوند. درواقع، استفاده از عوامل کمپلکس کننده مانند EDTA و EGTA^۴، یا استفاده از رزین های Dowex، باعث از بین رفتن EPM می شود. محلول EDTA برای حذف آگروپلی ساکاریدها از بسترهای درشت و شنی، مورد استفاده قرار می گیرد. علاوه براین، قابلیت ساکن کردن فلزات سنگین سمی به صورت انتخابی می تواند یک استراتژی دفاعی برای جلوگیری از آن ها برای رسیدن به سلول ها باشد (۴۶).

راکتورهای زیستی نوری برای تولید بیوفیلم ها

رشد فتوتروفیک در سیستم های فنی عمدتاً با دسترسی به نور محدود می شود. در کشت های معلق، چگالی سلولی معمولاً

EPM باعث ایجاد ریز محیط های هیدراته ای می شود که در آن سلول ها از اشعه خورشیدی مضر و آسیب فیزیکی محافظت شده و یک منبع کربن برای هتروتروف ها هستند. در شرایط آزمایشگاهی، محققان ثابت کردند که آگروپلی ساکارید های تولید شده توسط *Nostoc sp.* CCME ۶۱۶۰ باعث بهبود تحمل به تنش آب در ریز جلبک همراه آن یعنی *Chlorella sp.* CCME ۶۰۳۸ می شود که آگروپلی ساکارید تولید نمی کنند (۴۵).

دفع آگروپلی ساکاریدها، یک گام کلیدی در چسبیدن سلول های سیانوباکتری ها به سطوح جامد است که فرآیندی است که نقش مهمی را در تشکیل بیوفیلم های فتوتروفیک و BSC ها ایفا می کند. درواقع، به نظر می رسد که پلی ساکاریدهای کپسولی، چسبندگی میکروبی به سوبستراهای جامد و تجمع سوبستراهای درشت را افزایش می دهند. مطالعات نشان می دهد که افزودن پلی ساکاریدهای کپسولی تولید شده توسط *Nostoc muscorum* به خاک، موجب چسباندن ذرات خاک و تولید بیشتر آگروپلی ساکاریدها می شود. چسبندگی سلول های سیانوباکتری ها به سطوح جامد به دلیل ویژگی های هیدروفیکی آگروپلی ساکاریدها افزایش می یابد، اما در آگروپلی ساکارید های باکتری ها به حضور و مقدار داکسی هگوزها و رامنوز و گروه های استیل مرتبط با استر و اجزای پپتیدی، بستگی دارد (۱۹).

در بیوفیلم ها و در BSC ها، لایه های اولیه سیانوباکتری ها به واسطه خواص چسبندگی آگروپلی ساکاریدها به مواد جامد متصل می شوند، سپس ضخامت بازمان افزایش می یابد و از سایر گونه های میکروبی در طول مراحل رشد استفاده می کند. یکی از نمونه های برجسته سیانوباکتری های پیشگام *Microcoleus vaginatus* است که یک گونه شایع در سیستم های خاک های خشک در محیط های دریایی است. آگروپلی ساکارید های تولید شده از سیانوباکتری ها و دیاتوم ها، یک ماتریس را تشکیل می دهند که باعث پایداری سطوح

³ Divalent

⁴ Egtazic acid

¹ Epilithic

² Capsulated or sheathed cells

می‌شوند. پیشرفت‌های فعلی بر اساس بیوراکتورهای موجود است که عمدتاً برای کشت سلول‌های معلق و موجودات کموتروتروف طراحی شده‌اند؛ بنابراین تولید راکتورهایی که امکان کشت بیوفیلم‌های سیانوباکتریایی در مقیاس بزرگ را فراهم کنند، به‌شدت مورد نیاز هستند.

کاربرد سیانوبیوفیلم‌ها در تصفیه فاضلاب و

زیست پالایی

بیوفیلم‌ها یک فناوری جاافتاده در تصفیه فاضلاب و زیست پالایی هستند. بیوفیلم‌هایی که عمدتاً از ارگانسیم‌های شیمیواتوتروف تشکیل شده‌اند، برای کاهش بار کربن آلی در فاضلاب استفاده می‌شوند. در دهه ۱۹۶۰، مطالعات متعددی برای بررسی اثر ترکیب باکتری‌های در حال رشد هتروتروف با ریز جلبک‌های فوتواتوتروف برای حل مشکل محدودیت اکسیژن آغاز شد. با کشت هم‌زمان ریز جلبک‌ها و هتروتروف‌ها، ارگانسیم‌های فوتوتروف، اکسیژن را برای بخش تنفسی جامعه میکروبی فراهم می‌کنند. به اصطلاح توده‌های میکروجلبک-باکتریایی که در حال حاضر یک موضوع مهم در تصفیه فاضلاب هستند و عمدتاً برای فاضلاب‌هایی با بار کربن بالا استفاده می‌شوند (۳۱، ۳۲).

جذب زیستی به عنوان یک استراتژی امیدوارکننده برای حذف فلزات، بازیافت و استفاده مجدد از آلاینده‌های فلزات سنگین مورد بحث قرار می‌گیرد. به خصوص که فلزات دو ظرفیتی به خوبی جذب می‌شوند. یک مطالعه اخیر سیانوباکتری‌های دریایی را برای تولید مداوم EPS و حذف فلزات سنگین مورد بررسی قرارداد. همه ارگانسیم‌های آزمایش شده تمایل بسیار بالایی به مس نشان دادند و نیکل و روی نیز به مقدار کافی حذف شدند. مشاهدات مشابهی برای EPS از سیانوباکتریوم گرما دوست *Gloeocapsa gelatinosa* و *Nostoc muscorum* گزارش شد که قادر بودند تا کادمیوم را از محلول‌های آبی حذف کند (۴۵، ۴۶، ۴۹، ۵۰). EPS تولید شده توسط بیوفیلم‌های *Synechocystis* PCC برای جذب آلاینده‌های آرسنیک مورد استفاده قرار

از ۸ گرم وزن خشک سلولی در لیتر بیشتر نمی‌شود که تقریباً ده برابر کمتر از چگالی سلولی است که در کشت‌های شیمیوتروفیک به دست می‌آید. رشد این موجودات فوتوتروفیک به صورت بیوفیلم ممکن است راه‌حلی برای این محدودیت باشد، زیرا در این حالت، چگالی سلولی به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (تا ۶۰ گرم وزن خشک سلولی) در لیتر گزارش شده است (۹).

با اینکه انواع مختلفی از راکتورهای زیستی نوری برای کشت‌های معلق وجود دارد، اما تنها چند سیستم برای رشد بیوفیلم‌های این موجودات نور دوست در دسترس است. یک محدودیت اصلی، وجود سطحی است که موجودات برای اتصال به آن نیاز دارند. محتوای بالای زیست توده در بیوفیلم‌ها به عملکردی با مصرف انرژی کمتر و برداشت زیست توده بهینه‌تر منجر می‌شود. بیوفیلم‌های سیانوباکتریایی با استفاده از راکتورهای زیستی نوری پیوسته و دوره‌ای کشت داده می‌شوند که شامل سیستم‌های قطره‌ای، صفحه‌های تخت و راکتورهای لوله‌ای هستند (۳۴، ۴۷).

در تولید سوخت‌های زیستی، تشکیل بیوفیلم‌ها یکی از مشکلات عمده که شامل هزینه‌های بالای رشد و مصرف زیاد آب است را کاهش می‌دهد. بیوفلوکولاسیون یا سویه‌هایی که به صورت توده‌ای، بر لایه‌های معلق یا بیوفیلم‌هایی مانند سیانوباکتری‌های رشته‌ای مانند: *Chroococcidiopsis* sp.، *Tolypothrix* sp. و *Phormidium murrayi*، *Phormidium autumnale* و *Planktothrix* sp. رشد می‌کنند اهمیت زیادی دارند، زیرا به جدا شدن سلول کمک می‌کنند و مصرف آب را نیز کاهش می‌دهند (۹، ۳۳، ۴۸). محدودیت‌ها و مشکلاتی که تشکیل بیوفیلم به همراه دارد، خود سایه‌اندازی است که به محدودیت و نرسیدن نور منجر می‌شود می‌تواند در کشت بیوفیلم‌ها ایجاد شوند که این به سیستم راکتورها هم بستگی دارد. یکی از مشکلات اصلی نیز فقدان فناوری‌های مناسب برای راکتور است. در واقع سایه‌اندازی خودبه‌خودی که منجر به محدودیت نور می‌شود و انسداد، بسته به نوع سیستم راکتور، از مشکلات بالقوه در کشت بیوفیلم محسوب

می گیرد، درحالی که پوسته زیستی *Leptolyngbya* sp. *XZMQ* برای حذف آرسنیک مورد استفاده قرار گرفت (۵۱).

بیوفیلم های سیانوباکتری در کشاورزی

در کشاورزی، بیشتر کاربردهای سیانوباکتری ها بر روی ریزوسفر انجام می شود. بیوفیلم های سیانوباکتری ها به دلیل توانایی بسیاری از گونه ها در تثبیت نیتروژن جو به عنوان کودهای طبیعی مورد استفاده قرار می گیرند. علاوه بر این، متابولیت های خارج سلولی آن ها، نقش مهمی به عنوان مثال جذب کننده شیمیایی، ترویج فعل و انفعالات گیاه - میکروب دارند و بر اهمیت آن ها به عنوان کود در کشاورزی می افزایند. سیستم های کشت گیاهان به روش هیدروپونیک، به صورتی است که ریشه ها در حال رشد در فاز مایع هستند. ریشه ها به عنوان یک سطح اتصال بیوفیلم برای سیانوباکتری های تثبیت کننده نیتروژن عمل می کنند و در نتیجه تعامل نزدیک N-تأمین کننده (بیوفیلم) و N-مصرف کننده (گیاه) انجام می شود (۴، ۵۲).

علاوه بر این، EPS دفع شده توسط سیانوبیوفیلم ها سطح خاک را تثبیت می کند، ظرفیت اتصال به آب و خاک را افزایش می دهد و زیستگاهی غنی از مواد مغذی را برای موجودات هتروتروف مختلف و انواع باکتری های مرتبط از نظر زراعی فراهم می کند. چندین مطالعه تأثیر مفید چنین بیوفیلم هایی را از نظر رشد حبوبات، محصولات زراعی، سبزی ها و غلات نشان داده اند. پس از تلقیح، پارامترهای خاک مانند محتوای N، P، S و C و سایر مواد تنظیم کننده رشد مانند اسیدهای آمینه و ویتامین ها افزایش می یابد که منجر به رشد سریع تر گیاه، افزایش وزن دانه و کاهش قابل توجه کود مصنوعی می شود (4, 5, 53).

ارزیابی بیوفیلم های سیانوباکتری ها

برای ارزیابی ویژگی ها و عملکرد بیوفیلم های سیانوباکتریایی، می توان از روش های مختلفی استفاده کرد. درواقع برای ساخت مدل هایی که بتوانند از کاربردهای ویژه

بیوفیلم حمایت کنند، به دانش بیشتری در مورد تشکیل، توسعه و پویایی های بیوفیلم در سیستم های راکتور نیاز است. علاوه بر آن برای توسعه مدل های دقیق و کارآمد نیز به دانش عمیق تری از فعالیت درون سلولی بیوفیلم، تبادلات داخلی بین سلول ها و تبادلات با محیط اطراف به عنوان تابعی از زمان و مکان درون بیوفیلم نیاز است. بیوفیلم ها، ساختارهای پیچیده سه بعدی هستند که می توانند از طریق فن های تصویربرداری مختلف ارزیابی شوند و وضوح و عمق نفوذ را از مقیاس نانومتر تا میلی متر پوشش دهند. در گذشته، مطالعات اولیه بیوفیلم ها از طریق میکروسکوپ نوری ساده انجام می شد و از روش های مختلف رنگ آمیزی برای مشاهده EPS بیوفیلم ها از رنگ آمیزی آلسین آبی استفاده می کردند؛ اما امروزه، از میکروسکوپ فلورسانس و میکروسکوپ کنفوکال لیزری با وضوح بالا و قابلیت تصویربرداری از سلول های زنده برای کشف ساختارهای بیوفیلم، ساختارهای سلولی و عملکرد آن ها به کار می روند. اسیدهای نوکلئیک یا ترکیبات EPS می توانند به طور اختصاصی با برجسب های فلورسانس نشانه گذاری شوند، یا از اتوفلورسانس رنگدانه های فتوسنتزی بدون اینکه ساختار اصلی بیوفیلم در طول آماده سازی نمونه تخریب شود می توان استفاده کرد (۹، ۱۵، ۵۴، ۵۵).

توموگرافی انسجام نوری (OCT)^۱ و تصویربرداری با تشدید مغناطیسی هسته ای (NMR)^۲ ابزارهای پیشرفته ای هستند که می توانند میزان نفوذ را به خوبی نشان دهند. فن های تصویربرداری مانند میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۳، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)^۴ و میکروسکوپ یون هلیوم، وضوح بسیار بالایی در مقیاس نانومتری ارائه می دهند؛ اما این روش ها نیاز به آماده سازی ویژه نمونه دارند که ممکن است ساختار اصلی بیوفیلم ها را تحت تأثیر قرار دهد. فناوری هایی مانند طیف سنجی جرمی ثانویه در مقیاس نانو (nanoSIMS)^۵ و طیف سنجی جرمی زمان پرواز (TOF-SIMS)^۶ اطلاعاتی در مورد ترکیب

^۴ Transmission electron microscopy

^۵ Nanoscale Secondary Ion Mass Spectrometer

^۶ Time-of-flight secondary ion mass spectrometry

^۱ Optical coherence tomography

^۲ Nuclear magnetic resonance

^۳ Scanning electron microscope

شیمیایی بیوفیلیم ها ارائه می دهند که این دو مورد اخیر به مواد بسیار پیچیده و ابزار دقیق پرهزینه پیچیده نیاز دارند (۶۰-۵۵). در سطح سلولی، استراتژی های چندگانه آمیک برای توصیف فیزیولوژی بیوفیلیم در تمامی سطوح درون سلولی، به کار گرفته شده اند. از آنجایی که روش های توالی یابی نسل بعدی در دسترس تر شده اند، دست یابی به اطلاعات رونویسی بیوفیلیم های سیانوباکتری اکنون امکان پذیر است. ثبت تغییرات در پروتئوم و متابولوم مرتبط با آن به محققان اجازه می دهد تا به نتایجی در مورد عملکرد مسیرهای متابولیکی و جریان های داخلی یک سلول دست یابند (۳۴، ۴۷، ۵۵، ۶۱).

نتیجه گیری کلی

اگزوپلی ساکارید های حاصل از سیانوباکتری ها، نقش مهمی در محافظت جمعیت میکروبی ساکن در بیوفیلیم ها، از عوامل محیطی مضر دارد. با این حال، به رغم تعداد زیاد مطالعات صورت گرفته که این نقش را تأیید می کنند، تنها برخی از آن ها مکانیسم های مولکولی که منجر به سنتز و انتشار اگزوپلی ساکاریدها در شرایط تنش محیطی می شوند را به طور مستقیم بررسی کرده اند. برای مشخص کردن مسیری که در آن عوامل محیطی، باعث فعال شدن ماشین های بیوسنتزی و سنتز اگزوپلی ساکاریدها می شود و برای تشریح تفاوت های مشاهده شده در واکنش سیانوباکتری های تولیدکننده اگزوپلی ساکاریدها به تنش های مشابه، به بررسی های بیشتر در این راستا نیاز است.

در زمینه های زیست پالایی، تصفیه فاضلاب و کشاورزی، بیوفیلیم های سیانوباکتریایی در حال تبدیل شدن به فناوری های تثبیت شده هستند. با این حال، برای بیوتکنولوژی موفقیت آمیز، چالش هایی وجود دارد. انتقال نور به داخل محیط کشت سیانوباکتری ها، چه در حالت تعلیق سلولی و چه در بیوفیلیم ها، چالش برانگیز است زیرا این امر منجر به چگالی سلولی پایین یا سیستم های مسطح و دوبعدی با حجم داخلی کم می شود. برای بهبود کارایی بیوفیلیم های تشکیل دهنده سیانوباکتری ها، نیاز به فناوری های نوآورانه ای داریم که بتوانند نور را به ساختارهای سه بعدی انتقال داده و سطح بالایی را برای اتصال فراهم کنند. این امر به دستگاه های رآکتور اجازه می دهد تا با بهبود سطح تماس و افزایش کارایی فتوسنتز، جایگاه بهتری در محیط های کشت داشته باشند. برای بهره برداری و تولید بلندمدت در یک سیستم بیوفیلیم، سویه های تولید شده باید به صورت ژنتیکی پایدار باشند و همچنین برای مشارکت در جمعیت های مختلط، باید به نسبت مطلوب حفظ شوند. با این حال هنوز مشخص نیست که این مشکلات چگونه ممکن است عملکرد کلی را در یک سیستم پیوسته تحت تأثیر قرار دهند و واکنش های ژنتیکی چگونه بر بهره وری بلندمدت تأثیر می گذارد. امروزه ثابت شده است که مدل سازی، ابزاری ضروری برای توسعه بیشتر بیوفیلیم ها و درک بهتر سیستم های موجود است. با این حال مکانیسم های داخلی بیوفیلیم های سیانوباکتریایی هنوز به طور کامل شناخته نشده اند.

1. Crockford PW, On YMB, Ward LM, Milo R, Halevy I. The geologic history of primary productivity. *Current Biology*. 2023;33(21):4741-50. e5.
2. Toepel J, Karande R, Bühler B, Bühler K, Schmid A. Photosynthesis driven continuous hydrogen production by diazotrophic cyanobacteria in high cell density capillary photobiofilm reactors. *Bioresource Technology*. 2023;373:128703.
3. Lin P-C, Zhang F, Pakrasi HB. Enhanced production of sucrose in the fast-growing cyanobacterium *Synechococcus elongatus* UTEX 2973. *Scientific reports*. 2020;10(1):390.
4. Peng X, Bruns MA. Development of a nitrogen-fixing cyanobacterial consortium for surface stabilization of agricultural soils. *Journal of Applied Phycology*. 2019;31:1047-56.
5. Bao J, Zhuo C, Zhang D, Li Y, Hu F, Li H, et al. Potential applicability of a cyanobacterium as a biofertilizer and biopesticide in rice fields. *Plant and Soil*. 2021;463:97-112.
6. Lippi L, Bähr L, Wüstenberg A, Wilde A, Steuer R. Exploring the potential of high-density cultivation of cyanobacteria for the production of cyanophycin. *Algal research*. 2018;31:363-6.
7. Jahn M, Vialas V, Karlsen J, Maddalo G, Edfors F, Forsström B, et al. Growth of cyanobacteria is constrained by the abundance of light and carbon assimilation proteins. *Cell reports*. 2018;25(2):478-86. e8.
8. Kämäräinen J, Nylund M, Aro E-M, Kallio P. Comparison of ethanol tolerance between potential cyanobacterial production hosts. *Journal of biotechnology*. 2018;283:140-5.
9. Bozan M, Schmid A, Bühler K. Evaluation of self-sustaining cyanobacterial biofilms for technical applications. *Biofilm*. 2022;4:100073.
10. Yang N, Li Y, Lin L, Niu L, Zhang W, Wang L. Transition of organic matter from allochthonous to autochthonous alters benthic nutrient dynamics via microbial food webs. *Science of The Total Environment*. 2024;916:170186.
11. Novotny A, Serandour B, Kortsch S, Gauzens B, Jan KM, Winder M. DNA metabarcoding highlights cyanobacteria as the main source of primary production in a pelagic food web model. *Science Advances*. 2023;9(17):eadg1096.
12. Sun X, Xiao Y, Yong C, Sun H, Li S, Huang H, et al. Interactions between the nitrogen-fixing cyanobacterium *Trichodesmium* and siderophore-producing cyanobacterium *Synechococcus* under iron limitation. *ISME communications*. 2024;4.(1)
13. Zehr JP, Capone DG. Changing perspectives in marine nitrogen fixation. *Science*. 2020;368(6492):eaay9514.
14. Demoulin CF, Lara YJ, Lambion A, Javaux EJ. Oldest thylakoids in fossil cells directly evidence oxygenic photosynthesis. *Nature*. 2024;625(7995):529-34.
15. Flemming H-C, van Hullebusch ED, Neu TR, Nielsen PH, Seviour T, Stoodley P, et al. The biofilm matrix: multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*. 2023;21(2):70-86.
16. Campbell MA, Bauersachs T, Schwark L, Proemse BC, Eberhard RS, Coolen MJ, et al. Salinity-driven ecology and diversity changes of heterocytous cyanobacteria in Australian freshwater and coastal-marine microbial mats. *Environmental Microbiology*. 2022;24(12):6493-509.
17. Bozan M, Berreth H, Lindberg P, Bühler K. Cyanobacterial biofilms: from natural systems to applications. *Trends in Biotechnology*. 2024.
18. Hooper PM, Bass D, Feil EJ, Vincent WF, Lovejoy C, Owen CJ, et al. Arctic cyanobacterial mat community diversity decreases with latitude across the Canadian Arctic. *FEMS Microbiology Ecology*. 2024;100(6):fiaee067.
19. Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, Hall-Stoodley L, Burmølle M, Stewart PS, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*. 2022;20(10):608-20.
20. Xue Y, Yu C, Ouyang H, Huang J, Kang X. Uncovering the Molecular Composition and Architecture of the *Bacillus subtilis* Biofilm via Solid-State NMR Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*. 2024;146(17):11906-23.
21. Romeu MJ, Miranda JM, de Jong ED, Morais J, Vasconcelos V, Sjölema J, et al. Understanding the flow behavior around marine biofilms. *Biofilm*. 2024:100204.
22. Böcker L, Hostettler T, Diener M, Eder S, Demuth T, Adamcik J, et al. Time-temperature-resolved functional and structural changes of phycocyanin extracted from *Arthrospira platensis*/Spirulina. *Food chemistry*. 2020;316:126374.
23. García AB, Longo E, Bermejo R. The application of a phycocyanin extract obtained from

- Arthrospira platensis* as a blue natural colorant in beverages. *Journal of Applied Phycology*. 2021;33(5):3059-70.
24. Assil-Companiononi L, Büchschütz HC, Solymosi D, Dyczmons-Nowaczyk NG, Bauer KK, Wallner S, et al. Engineering of NADPH supply boosts photosynthesis-driven biotransformations. *ACS catalysis*. 2020;10(20):11864-77.
 25. Mascia F, Pereira SB, Pacheco CC, Oliveira P, Solarczek J, Schallmey A, et al. Light-driven hydroxylation of testosterone by *Synechocystis* sp. PCC 6803 expressing the heterologous CYP450 monooxygenase CYP110D1. *Green Chemistry*. 2022;24(16):6156-67.
 26. Nilsson A, Shabestary K, Brandão M, Hudson EP. Environmental impacts and limitations of third-generation biobutanol: Life cycle assessment of n-butanol produced by genetically engineered cyanobacteria. *Journal of Industrial Ecology*. 2020;24(1):205-16.
 27. Pathania R, Srivastava A, Srivastava S, Shukla P. Metabolic systems biology and multi-omics of cyanobacteria: Perspectives and future directions. *Bioresource Technology*. 2022;343:126007.
 28. Miao R, Jahn M, Shabestary K, Peltier G, Hudson EP. CRISPR interference screens reveal growth-robustness tradeoffs in *Synechocystis* sp. PCC 6803 across growth conditions. *The Plant Cell*. 2023;35(11):3937-56.
 29. Mironov KS, Sinetova MA, Shumskaya M, Los DA. Universal molecular triggers of stress responses in cyanobacterium *Synechocystis*. *Life*. 2019;9(3):67.
 30. Hoschek A, Heuschkel I, Schmid A, Bühler B, Karande R, Bühler K. Mixed-species biofilms for high-cell-density application of *Synechocystis* sp. PCC 6803 in capillary reactors for continuous cyclohexane oxidation to cyclohexanol. *Bioresource technology*. 2019;282:171-8.
 31. Papadopoulos KP, Economou CN, Dailianis S, Charalampous N, Stefanidou N, Moustaka-Gouni M, et al. Brewery wastewater treatment using cyanobacterial-bacterial settleable aggregates. *Algal Research*. 2020;49:101957.
 32. Hammond CR, Loge FJ. Wastewater treatment with microalgal-bacterial aggregates: The tradeoff between energy savings and footprint requirements. *Bioresource Technology*. 2024;395:130270.
 33. Das P, Khan S, AbdulQuadir M, Thaher MI, Hawari AH, Alshamri N, et al. Biocrude oil production from a self-settling marine cyanobacterium, *Chroococidiopsis* sp., using a biorefinery approach. *Renewable Energy*. 2023;203:1-9.
 34. Heuschkel I, Hanisch S, Volke DC, Löfgren E, Hoschek A, Nikel PI, et al. *Pseudomonas taiwanensis* biofilms for continuous conversion of cyclohexanone in drip flow and rotating bed reactors. *Engineering in Life Sciences*. 2021;21(3-4):258-69.
 35. Vajravel S, Sirin S, Kosourov S, Allahverdiyeva Y. Towards sustainable ethylene production with cyanobacterial artificial biofilms. *Green Chemistry*. 2020;22(19):6404-14.
 36. Appel J, Craig S, Theune M, Hüren V, Künzel S, Forberich B, et al. Evidence for Electron Transfer from the Bidirectional Hydrogenase to the Photosynthetic Complex I (NDH-1) in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Microorganisms*. 2022;10(8):1617.
 37. Lupacchini S, Appel J, Stauder R, Bolay P, Klähn S, Lettau E, et al. Rewiring cyanobacterial photosynthesis by the implementation of an oxygen-tolerant hydrogenase. *Metabolic Engineering*. 2021;68:199-209.
 38. Victoria AJ, Selão TT, Moreno-Cabezuelo JÁ, Mills LA, Gale GA, Lea-Smith DJ, et al. A toolbox to engineer the highly productive cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 11901. *Plant physiology*. 2024:kiae261.
 39. Chen W, Chen Y-H, Liao Y-C, Huang X-W, Lu T-J, Shih S-R. Effect of hot water extracts of *Arthrospira maxima* (spirulina) against respiratory syncytial virus. *Phytomedicine*. 2023;110:154611.
 40. Mota R, Vidal R, Pandeirada C, Flores C, Adessi A, De Philippis R, et al. Cyanoflan: A cyanobacterial sulfated carbohydrate polymer with emulsifying properties. *Carbohydrate polymers*. 2020;229:115525.
 41. Gongi W, Cordeiro N, Pinchetti JLG, Ouada HB. Functional, rheological, and antioxidant properties of extracellular polymeric substances produced by a thermophilic cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. *Journal of Applied Phycology*. 2022;34(3):1423-34.
 42. Madsen MA, Semerdzhiev S, Twigg JD, Moss C, Bavington CD, Amtmann A. Environmental modulation of exopolysaccharide production in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2023;107(19):6121-34.

43. Santos M, Pereira SB, Flores C, Príncipe C, Couto N, Karunakaran E, et al. Absence of KpsM (Slr0977) impairs the secretion of extracellular polymeric substances (EPS) and impacts carbon fluxes in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Msphere*. 2021;6(1):10.1128/msphere. 00003-21.
44. Chamizo S, Mugnai G, Rossi F, Certini G, De Philippis R. Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: gaining insights for applicability in soil restoration. *Frontiers in Environmental Science*. 2018;6:49.
45. Naveed S, Li C, Zhang J, Zhang C, Ge Y. Sorption and transformation of arsenic by extracellular polymeric substances extracted from *Synechocystis* sp. PCC6803. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020;206:111200.
46. Ciani M, Decorosi F, Ratti C, De Philippis R, Adessi A. Semi-continuous cultivation of EPS-producing marine cyanobacteria: A green biotechnology to remove dissolved metals obtaining metal-organic materials. *New Biotechnology*. 2024;82:33-42.
47. Tran H-D, Ong B-N, Ngo V-T, Tran D-L, Nguyen T-C, Tran-Thi B-H, et al. New angled twin-layer porous substrate photobioreactors for cultivation of *Nannochloropsis oculata*. *Protist*. 2022;173(6):125914.
48. Velu C, Karthikeyan OP, Brinkman DL, Cirés S, Heimann K. Biomass pre-treatments of the N₂-fixing cyanobacterium *Tolypothrix* for co-production of methane. *Chemosphere*. 2021;283:131246.
49. Raghavan PS, Potnis AA, Gupta S, Gadly T, Kushwah N, Rajaram H. Interlink between ExoD (Alr2882), exopolysaccharide synthesis and metal tolerance in *Nostoc* sp. strain PCC 7120: insight into its role, paralogs and evolution. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;242:125014.
50. Gong W, Gomez Pinchetti JL, Cordeiro N, Ouada HB. Extracellular polymeric substances produced by the Thermophilic Cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa*: Characterization and assessment of their antioxidant and metal-chelating activities. *Marine Drugs*. 2022;20(4):227.
51. Mao Q, Xie Z, Pei F, Irshad S, Issaka S, Randrianarison G. Indigenous cyanobacteria enhances remediation of arsenic-contaminated soils by regulating physicochemical properties, microbial community structure and function in soil microenvironment. *Science of The Total Environment*. 2023;860:160543.
52. Nishanth S, Prasanna R. Untargeted GC-MS reveals differential regulation of metabolic pathways in cyanobacterium *Anabaena* and its biofilms with *Trichoderma viride* and *Providencia* sp. *Current Research in Microbial Sciences*. 2022;3:100174.
53. Kumar G, Teli B, Mukherjee A, Bajpai R, Sarma B. Secondary metabolites from cyanobacteria: a potential source for plant growth promotion and disease management. *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications*. 2019:239-52.
54. Papadatou M, Knight M, Salta M. High-throughput method development for in-situ quantification of aquatic phototrophic biofilms. *Biofouling*. 2022;38(5):521-35.
55. Bozan M, Schmidt M, Musat N, Schmid A, Adrian L, Bühler K. Spatial organization and proteome of a dual-species cyanobacterial biofilm alter among N₂-fixing and non-fixing conditions. *Msystems*. 2023;8(3):e00302-23.
56. Depetris A, Tagliavini G, Peter H, Kühl M, Holzner M, Battin TJ. Biophysical properties at patch scale shape the metabolism of biofilm landscapes. *npj Biofilms and Microbiomes*. 2022;8(1):5.
57. Villa F, Ludwig N, Mazzini S, Scaglioni L, Fuchs A, Tripet B, et al. A desiccated dual-species subaerial biofilm reprograms its metabolism and affects water dynamics in limestone. *Science of the Total Environment*. 2023;868:161666.
58. Huang W, Wang T, Perez-Fernandez C, DiRuggiero J, Kisailus D. Iron acquisition and mineral transformation by cyanobacteria living in extreme environments. *Materials Today Bio*. 2022;17:100493.
59. Anderton CR, Mobberley JM, Cole JK, Nunez JR, Starke R, Boaro AA, et al. Nitrogen source governs community carbon metabolism in a model hypersaline benthic phototrophic biofilm.

- Msystems. 2020;5(3):10.1128/msystems.00260-20.
60. Siljeström S, Parenteau M, Jahnke L, Cady S. A comparative ToF-SIMS and GC-MS analysis of phototrophic communities collected from an alkaline silica-depositing hot spring. *Organic Geochemistry*. 2017;109:14-30.
61. Simkovsky R, Parnasa R, Wang J, Nagar E, Zecharia E, Suban S, et al. Transcriptomic and phenomic investigations reveal elements in biofilm repression and formation in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:899150.

A review of the biotechnology applications of cyanobacterial biofilms

Bahareh Nowruzi ^{1*}, naghmeh Davood zadeh ¹, Alireza Cheraghi ¹

¹ Department of Biotechnology, Faculty of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Abstract

In the natural environment, exopolysaccharides are a common feature of microbial biofilms and play a key protective and structural role, being among the first participants in the synthesis of exopolysaccharides that form the extracellular polymeric matrix and cause the formation of microbial aggregations with varying levels of complexity called biofilms. Cyanobacteria are among the first organisms to establish themselves in environments with less favorable conditions, such as desert soils and rocky and uncovered substrates, and by synthesizing exopolysaccharides, they create a hydrated microenvironment with structural strength as well as chemical/physical protection against living and non-living stressors, leading to the formation of biofilms. However, despite the important role of cyanobacterial exopolysaccharides, many aspects of their role and their relationship with biotic and abiotic factors are still unclear. Therefore, this review article examines their role in protecting the microbial community by searching for the latest articles.

Keywords: Biofilm, microbial communities, cyanobacteria, exopolysaccharides

* bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir