

VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA

MAGISTRSKO DELO

**NADZOR IN ANALIZA POVRŠINSKEGA
CVETENJA FITOPLANKTONA S Poudarkom
NA CIANOBAKTERIJAH**

TJAŠA DROLC

VELENJE, 2019

VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA

MAGISTRSKO DELO

**NADZOR IN ANALIZA POVRŠINSKEGA
CVETENJA FITOPLANKTONA S Poudarkom
NA CIANOBAKTERIJAH**

TJAŠA DROLC

Varstvo okolja in ekotehnologije

Mentor: prof. dr. Bojan Sedmak

VELENJE, 2019

Na podlagi Diplomskega reda izdajam naslednji

SKLEP O MAGISTRSKEM DELU

Študentka Visoke šole za varstvo okolja **Tjaša Drole** lahko izdela magistrsko delo z naslovom v slovenskem jeziku:

Nadzor in analiza površinskega cvetenja fitoplanktona s poudarkom na cianobakterijah

Naslov magistrskega dela v angleškem jeziku:

Observation and analysis of surface blooming phytoplankton with an emphasis on cyanobacteria

Mentor: **prof. dr. Bojan Sedmak**

Magistrsko delo mora biti izdelano v skladu z Diplomskim redom.

Pouk o pravnem sredstvu: zoper ta sklep je dovoljena pritožba na Senat VŠVO v roku 8 delovnih dni od prejema sklepa.



Izr. prof. dr. Boštjan Pokorny
dekan



IZJAVA O AVTORSTVU

Podpisani/a TSASA DROLC, vpisna številka 34170028, študent/ka visokošolskega strokovnega študijskega programa Varstvo okolja in ekotehnologije, sem avtor/ica diplomskega dela z naslovom NADZOR IN ANALIZA POVRŠINSKEGA CVETENJA FITOPLANKTONA S POUKARJEM NA CIANOBAKTERIJAH,

ki sem ga izdelal/a pod:

- mentorstvom PROF. DR. BOSANA SEDMAKA
- somentorstvom /

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je predloženo delo moje avtorsko delo, torej rezultat mojega lastnega raziskovalnega dela;
- oddano delo ni bilo predloženo za pridobitev drugih strokovnih nazivov v Sloveniji ali tujini;
- so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem delu, navedena oz. citirana v skladu z navodili VŠVO;
- so vsa dela in mnenja drugih avtorjev navedena v seznamu virov, ki je sestavni element predloženega dela in je zapisan v skladu z navodili VŠVO;
- se zavedam, da je plagiatorstvo kaznivo dejanje;
- se zavedam posledic, ki jih dokazano plagiatorstvo lahko predstavlja za predloženo delo in moj status na VŠVO;
- je diplomsko delo jezikovno korektno in da je delo lektoriral/a MAG. TADEJ IAN;
- dovoljujem objavo diplomskega dela v elektronski obliki na spletni strani VŠVO;
- sta tiskana in elektronska verzija oddanega dela identični.

Datum: 27. 09. 2019

Podpis avtorja/ice: Drohc

ZAHVALA

Rada bi se zahvalila svojemu mentorju prof. dr. Bojanu Sedmaku za posredovano znanje, ideje in kritične pripombe. Prav tako bi se zahvalila še doc. dr. Tini Eleršek in Karmen Stanič za pomoč v laboratoriju in dobro delovno vzdušje.

IZVLEČEK

Cianobakterije so sestavni del fitoplanktona v morjih in sladkovodnih ekosistemih. Površinsko cvetenje cianobakterij predstavlja izjemno tveganje za okolje, tako za ekosistem kot tudi za organizme, živali in ljudi. Zgodnje zaznavanje toksičnega površinskega cvetenja je ključnega pomena za nadaljnje spopadanje s tem škodljivim pojavom. Standardne metode spremljanja cvetenja fitoplanktona imajo številne omejitve, zato je potrebna nadgradnja z metodami, ki dajejo rezultate v realnem času ter so lahko dostopne. Sodobne metode temeljijo na kombinaciji brezpilotnih letal, multispektralnih kamer itd. Metode, ki omogočajo takojšnjo detekcijo cvetenja cianobakterij temeljijo na fluorescenci, ki jo cianobakterije oddajajo.

Pregledali smo obnašanje površinskega cvetenja na lokacijah v Sloveniji, in sicer v Hotinji vasi, Prvencih, Savcih, Podgradu pri Gornji Radgoni, Boreci ter na Ledavskem jezeru. Površinska cvetenja so različna tako po izgledu kot tudi po vrsti cianobakterij. Ugotavljamo, da množična namnožitev cianobakterij izpodriva druge organizme tako, da v prizadetem vodnem telesu v skrajnem primeru ni več prisotnih drugih fitoplanktonov. Prav tako opazamo, da se večje kolonije cianobakterij *Microcystis aeruginosa* pojavljajo v jutranjem času na površju cvetenja in manjše v popoldanskem času. Na podlagi rezultatov meritev fluorescence ocenjujemo, da živi fitoplanktoni oddajajo manj fluorescence kot tisti pod stresom ali odmri.

KLJUČNE BESEDE: cianobakterije, površinsko cvetenje, brezpilotno letalo, fluorescenčna mikroskopija.

ABSTRACT

Cyanobacteria are a part of phytoplankton in the sea and in the freshwater ecosystems. Harmful surface bloom of cyanobacteria represents an exceptional risk to the environment, both for the ecosystem and for organisms, animals, and humans. Early detection of toxic surface blooms is essential for further monitoring of this harmful phenomenon. Standard methods for monitoring phytoplankton bloom have many limitations, thus upgrading with methods that give results in real-time, and are easily accessible if necessary. Modern methods are based on a combination of unmanned aerial vehicles, multispectral cameras, etc. Methods that enable the immediate detection of cyanobacterial surface bloom are based on fluorescence emitted by cyanobacteria.

We examined the behaviour of surface bloom at locations in Slovenia, in Hotinja village, Prvenci, Savci, Podgrad near Gornja Radgona, Boreci, and the lake Ledava. Surface bloom varied in both appearance and type of cyanobacteria. We find that massive replication of cyanobacterial blooming displaces other organisms in such a way that in the extreme case there are no longer any other phytoplankton's present in the affected water body. We also estimate that larger colonies of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* occur in the morning on the surface bloom and smaller in the afternoon. Based on the results of the measurements, we conclude that living organisms emit less fluorescence than those under stress or dead.

KEYWORDS: cyanobacteria, surface bloom, unmanned aerial vehicle (UAV), fluorescence microscopy.

KAZALO VSEBINE

SKLEP O MAGISTRSKEM DELU	I
IZJAVA O AVTORSTVU	II
ZAHVALA	III
IZVLEČEK	IV
ABSTRACT	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK.....	VII
KAZALO PREGLEDNIC	XI
1 UVOD.....	1
1.1 Namen in cilji naloge.....	2
1.1.1 Hipoteze	2
2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV	3
2.1 Fitoplankton	3
2.2 Cianobakterije.....	3
2.2.1 Taksonomija cianobakterij	3
2.2.1.1 Krogličaste cianobakterije (<i>Chroococcales</i>)	4
2.2.1.2 Nitaste cianobakterije	4
2.2.2 Tipi cvetenj cianobakterij	5
2.2.3 Biološko aktivne snovi	6
2.3 Dejavniki, ki vplivajo na nastanek površinskega cveta	8
2.3.1 Svetloba	8
2.3.2 Hranila	8
2.3.3 Dnevno nočni cikel.....	9

2.3.4	Temperatura	9
2.3.5	Stabilnost vodnega stolpca	10
2.3.6	Mešanje, tonjenje in lebdenje fitoplanktona.....	10
2.3.7	Alelopatija, kompeticija	10
2.4	Mehanizem fotosinteze	11
2.4.1	Fotosintezne značilnosti cianobakterij.....	12
2.4.2	Fluorescenca fitoplanktona	13
2.5	Monitoring cvetenja cianobakterij.....	14
2.5.1	Primerjava metodologije satelitskega in zračnega daljinskega zaznavanja	16
2.5.1.1	Ovire in izzivi	17
3	MATERIAL IN METODE DELO.....	18
3.1	Terensko delo.....	18
3.2	Kvalitativna analiza fitoplanktona	18
3.3	Kvantitativna analiza fitoplanktona.....	18
3.3.1	Številčna prisotnost posameznih vrst	18
3.3.2	Izračunavanje volumna posameznih planktonov (biovolumen).....	19
4	REZULTATI.....	20
4.1	Opis območja preiskav ter opažanja površinskega cvetenja	20
4.1.1	Ribnik v Hotinji vasi.....	20
4.1.2	Ribnik v Prvencih	21
4.1.3	Ribnik v Podgradu pri Gornji Radgoni	22
4.1.4	Ribnik Savci.....	23
4.1.5	Ribnik v Boreci.....	24
4.1.6	Ledavsko jezero.....	24
4.2	Predstavitev cvetenj.....	26

4.2.1	Vrstna sestava cvetenja.....	26
4.2.2	Primerjava lokacije vzorčenja ter dnevno spreminjanje morfologije površinskega cvetenja	37
4.3	Analize s pomočjo vidne svetlobe in fluorescence	41
5	RAZPRAVA.....	47
5.1	Spopadanje ribiških družin s površinskim cvetenjem cianobakterij.....	47
5.2	Uporaba brezpilotnega letala z namenom raziskovanja pojava površinskega cvetenja cianobakterij	48
5.3	Površinsko cvetenje cianobakterij	49
5.3.1	Dnevno morfološko spreminjanje površinskega cvetenja na vodnem telesu ...	53
5.4	Fotosintezna dejavnost cianobakterij	57
6	SKLEP	59
7	POVZETEK.....	60
8	SUMMARY	60
9	REFERENCE	62
9.1	Taksonomski ključi.....	67
10	Priloge.....	68

KAZALO SLIK

Slika 1: Primer perforirane kolonije <i>Microcystis aeruginosa</i> (Foto: Drolc T.).....	4
Slika 2: Shema delovanja fotosinteznega aparata (Prilagojeno po: Agrisera).....	12
Slika 3: Struktura fikobilisoma. Sestavljajo ga pomožni pigmenti fikoeritrin, fikocianin in alofikocianin (Prilagojeno po: Palaeos, <i>Life through deep time</i>).	12
Slika 4: Uporaba IR kamere za opazovanje površinskega cvetenja cianobakterij (foto: prof. dr. Sedmak B.).....	17
Slika 5: Levo je prikaz lege ribnika v Hotinji vasi, na sliki so označena tudi vzorčna mesta (koordinate lokacije: 46.467684,15.6766342, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz površinskega cvetenja <i>Microcystis aeruginosa</i> , zgoraj v dopoldanskem času in spodaj v popoldanskem času (foto: Drolc T.).....	20

Slika 6: Posnetek površinskega cvetenja v dopoldanskem času na ribniku v Hotinji vasi, posnet z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.).	21
Slika 7: Levo je prikaz lege ribnika v Prvencih, na sliki so označena mesta vzorčenja, ki so bila vzorčena na različnih lokacijah zaradi različnega pojavljanja površinskega cvetenja (koordinate lokacije: 46.417053, 15.959699, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz površinskega cvetenja <i>Microcystis aeruginosa</i> na različnih lokacijah, v prvem stolpcu so slike površinskega cvetenja posnete v dopoldanskem času, v drugem stolpcu so slike, posnete v popoldanskem času (foto: Drolc T.).	22
Slika 8: Površinsko cvetenje na ribniku v Prvencih, posnetek posnet z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.).	22
Slika 9: Levo je prikaz lege ribnika v Podgradu, na sliki so označena vzorčna mesta z datumom vzorčenja (koordinate lokacije: 46.682598, 15.967371, vir: Google zemljevid). Desno je prikazano površinsko cvetenje <i>Microcystis aeruginosa</i> na ribniku, in sicer je zgoraj prikazano cvetenje pred dodatkom kemikalij (vzorčenje 05. 09. 2018) in spodaj je prikazano površinsko cvetenje po dodatku kemikalij (vzorčenje 20. 09. 2018) (foto: Drolc T., prof. dr. Sedmak B.).	23
Slika 10: Levo je prikazana lega ribnika Savci, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinate lokacije: 46.467088, 16.037187, vir: Google zemljevid). Desno je prikazano površinsko cvetenje <i>Microcystis flos-aquae</i> in <i>Woronichinia naegeliana</i> v nastajanju (foto: prof. dr. Sedmak B.).	24
Slika 11: Levo je prikazana lega ribnika v Boreci, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinate lokacije: 46.563817, 16.146457, vir: Google zemljevid). Desno je fotografija površinskega cvetenja <i>Microcystis aeruginosa</i> in <i>Microcystis wasenbergi</i> (foto: Drolc T.).	24
Slika 12: Levo je prikazana lega Ledavskega jezera, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinate lokacije: 46.750754, 16.041058, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz oblikovanja površinskega cvetenja <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , na vzorčnem mestu (foto: Drolc T.).	25
Slika 13: Sestava površinskega cvetenja na različnih lokacijah. Modra barva predstavlja število vrst cianobakterij na površju. Oranžna barva predstavlja število vrst ostalih fitoplanktonov v površinskem cvetu.	26
Slika 14: Vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu Hotinja vas v dopoldanskem času.	27
Slika 15: Vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu Hotinja vas v popoldanskem času.	27
Slika 16: Vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu Prvenci, vzorčeno 05. 09. 2018 v opoldanskem času.	28
Slika 17: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca, vzorčeno 20. 09. 2018 v dopoldanskem času.	28
Slika 18: Boj za svetlobo in preživetje. Zelene alge v površinskem cvetenju živega vzorca iz Prvenci, vzorčeno 20. 09. 2018 v dopoldanskem času. Levo je s puščico označen <i>Scenedesmus</i> sp. in desno je s puščico označen <i>Ceratium</i> sp. Fotografija je bila posneta pod mikroskopom pri 100-kratni povečavi.	29
Slika 19: Vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu Prvenci, vzorčeno 20. 09. 2018 v popoldanskem času.	29
Slika 20: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz Podgrada, vzorčeno 05. 09. 2018.	30

Slika 21: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz Podgrada, vzorčeno 05. 09. 2018.	30
Slika 22: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz ribnika Savci.	31
Slika 23: <i>Aulacoseira ambigua</i> f. <i>japonica</i> , 200-kratna povečava (foto: Drolc T.)	31
Slika 24: Leva in desna slika prikazujeta zooplankton <i>Tintinnid</i> sp. Zaradi različne pozicije zooplanktona ga opazimo v drugačnih oblikah. Levo je prikaz zooplanktona s sprednje strani, desno je prikaz zooplanktona s strani (foto: Drolc T.).	32
Slika 25: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca Boreci	32
Slika 26: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz Ledavskega jezera.	33
Slika 27: V površinskem cvetenju filamentozne cianobakterije <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> na Ledavskem jezeru najdeni tudi <i>Microcystis aeruginosa</i> (spodaj) ter <i>Anabaena flos-aquae</i> (zgoraj) (foto: Drolc T.).....	33
Slika 28: S točkami prikazana vzorčna mesta (lokacije) na ribniku v Prvencih (vir: Google zmeljevid). 37	
Slika 29: Površinsko cvetenje <i>M. aeruginosa</i> na ribniku v Prvencih. Levo pogled iz brezpilotnega letala Phanton 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.). Od A do C posnetki prikazujejo površinsko cvetenje na različnih lokacij v dopoldanskem času ter posnetki od D do F prikazujejo površinsko cvetenje (oz. razpršeni cvet) v popoldanski čas (foto: Drolc T.).	37
Slika 30: Vrstna sestava cianobakterij v površinskem cvetenju za dopoldanski in popoldanski čas vzorčenja na različnih lokacijah na ribniku v Prvencih. Polni stolpci prikazujejo rezultate dopoldanskega vzorčenja. Črtkani stolpci prikazujejo rezultate popoldanskega vzorčenja. Rezultati so podani kot št. celic/L.	38
Slika 31: Sestava površinskega cvetenja na ribniku v Prvencih na različnih vzorčnih mestih (lokacijah).	39
Slika 32: Skupni biovolumen organizmov v površinskem cvetenju na različnih lokacijah v ribniku Prvenci, v dopoldanskem in popoldanskem času (datum vzorčenja: 20. 09. 2018).	39
Slika 33: Primerjava velikosti kolonij <i>Microcystis flos-aquae</i> v površinskem cvetenju na površini ribnika v Hotinji vasi. Zgornji dve sliki sta površinski cvetenji iz vzorcev, vzorčenih v dopoldanskem času. Spodnji sliki sta površinski cvetenji iz vzorcev, odvzetih v popoldanskem času. Na slikah so s puščicami označene kolonije <i>Microcystis flos-aquae</i> . Slike so bile narejene pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).	41
Slika 34: Prikaz fluorescence fikocianina v površinskem cvetenju pod epifluorescenčnim mikroskopom Eclipse T300. Na levi strani je površinsko cvetenje pod vidno svetlobo pri 100-kratni povečavi, kjer je s puščico prikazan <i>Pediastrum</i> sp. Na desni strani je to isto cvetenje z uporabo filtra B-2A, kjer je s puščico prikazano mesto, kjer je pri vidni svetlobi opaziti <i>Pediastrum</i> sp (foto: Drolc T.).	42
Slika 35: Površinsko cvetenje <i>Microcystis aeruginosa</i> pod vidno svetlobo levo in desno fluorescenco fikocianina z uporabo filtra B-2A (foto: Drolc T.).	42
Slika 36: Primerjava cianobakterij <i>Microcystis aeruginosa</i> ter <i>Woronichia naegliana</i> v živem (levo) in fiksiranem (desno) vzorcu. Vzorca sta bila pri enakem času izpostavljenosti svetlobe, 250 ms. Posnetki so bili posneti pri 100-kratni povečavi. Sliki A in C prikazujejo vidno svetlobo; sliki B in D prikazujeta fluorescenco fikocianina (foto: Drolc T.).	43

- Slika 37: Prikaz različne oddane fluorescence za različne vrste cianobakterij pri enaki časovni izpostavitvi beli svetlobi, 167 ms (desna slika). Leva slika površinskega cvetenja je v vidni svetlobi, desna prikazuje fluorescenco fikocianina. Posnetka sta posneta pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.). 44
- Slika 38: Prikaz različno oddane fluorescence vrst cianobakterij pri enaki časovni izpostavitvi svetlobe, 167 ms. Primerjava med vrstami *Aphanizomenon flos-aquae*, *Woronichia naegliana* ter *Microcystis viridis*. Posnetka sta posneta pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.). 44
- Slika 39: Primerjava *Microcystis aeruginosa* iz živega vzorca iz lokacije Prvenci v dopoldanskem času (levi stolpec) in v popoldanskem času (desni stolpec). Slike so bile posnete pri izpostavitvi bele svetlobe za 83 ms (B in E) in 167 ms (C in F) pod filtrom B-2Ai. Posnetki so posneti pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.). 45
- Slika 40: Primerjava obstojnosti fluorescence v fiksiranem vzorcu površinskega cvetenja. Prvi stolpec je bil posnet dan po tem, ko smo vzorec fiksirali s 37 % formaldehidom. Drugi stolpec je bil posnet en teden po fiksiranju in tretji stolpec dva tedna po fiksiranju. Slike so bile posnete pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.). 46
- Slika 41: Izsušeni ribnik na obrobju Hotinje vasi (foto: prof. dr. Sedmak B.). 48
- Slika 42: Posnetki površinskega cvetenja na ribnikih v Hotinji vasi (levo) in v Podgradu pri Gornji Radgoni (desno). Posnetka sta bila posneta z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.) 49
- Slika 43: Površinsko cvetenje fitoplanktona na šestih lokacijah. (A) Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* na ribniku v Hotinji vasi; (B) površinsko cvetenje *M. aeruginosa* ter *M. wasenbergi* na ribniku v Boreci; (C) Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* ter *M. flos-aquae* na ribniku v Prvenci; (D) površinsko cvetenje *Aphanizomenon flos-aquae* na Ledavskem jezeru; (E) površinsko cvetenje *M. aeruginosa* na ribniku v Podgradu pri Gornji Radgoni; (F) površinsko cvetenje *M. flos-aquae* ter *Woronichinia naegeliana* na ribniki Savci (Foto: Drolc T. in prof. dr. Sedmak B.) 50
- Slika 44: Dnevno spreminjanje morfologije površinskega cvetenja na ribniku v Prvencih. Levo je površinsko cvetenje *M. aeruginosa* v dopoldanskem času in desno je prikazan razpršeni cvet v popoldanskem času (foto: Drolc T.). 54
- Slika 45: Primer perforirane kolonije *Microcystis aeruginosa* (levo ter spodaj) in kolonije *Microcystis flos-aquae* (desno zgoraj). Primer površinskega cvetenja iz Prvencev, vzorčeno v opoldanskem času (foto: Drolc T.) 55
- Slika 46: Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* in *M. flos-aquae* na ribniku v Hotinji vasi. Posnetek je bil posnet v popoldanskem času (foto: Drolc T.). 56
- Slika 47: Prekomerna proizvodnja kisika ob intenzivni fotosintezi cianobakterij. Lokacija Hotinja vas (foto: Drolc T.). 57

KAZALO PREGLEDNIC

<i>Preglednica 1: Različni cianotoksini in njihov način delovanja na organizem (povzeto po: Huisman, 2018).</i>	7
<i>Preglednica 2: Formule, uporabljene za izračun volumna celic.</i>	19
<i>Preglednica 3: Rezultati števila celic fitoplanktona v vzorcih površinskega cvetenja.</i>	34
<i>Preglednica 4: Rezultati volumna celice ter skupnega biovolumna vrst v vzorcih površinskega cvetenja.</i>	35
<i>Preglednica 5: V odstotkih predstavljen skupni biovolumen cianobakterij, zelenih alg, diatomej in dinoflagelatov v naših vzorcih po lokacijah po Sloveniji.</i>	36
<i>Preglednica 6: Podatki za celice znotraj kolonije.</i>	40
<i>Preglednica 7: Primerjava velikosti <i>Microcystis aeruginosa</i> in <i>Microcystis flos-aquae</i> v vzorcih iz Prvencev.</i>	40
<i>Preglednica 8: Primerjava velikosti kolonij <i>Microcystis aeruginosa</i> in <i>Microcystis flos-aquae</i> v vzorcih iz Hotinje vasi.</i>	40
<i>Preglednica 9: Ocena tveganja za pojav cianobakterij v celinskih kopalnih vodah: smerne vrednosti, tveganje za zdravje ter ukrepi (vir: NIJZ).</i>	52

1 UVOD

Cvetenje cianobakterij v povezavi z eutrofikacijo površinskih voda je v zadnjem desetletju vedno bolj pogost pojav v svetu in tudi pri nas. Razumeti vse vzroke in posledice dogajanj, ki se dogajajo v nekem vodnem telesu, je zaradi zapletenosti takega sistema skoraj nemogoče. Prav zato je vsak korak k razumevanju vsaj enega dela dogajanj korak naprej.

Fitoplankton sestavljajo fototrofni organizmi različnih taksonomskih skupin; večinoma so to zelene alge, cianobakterije, diatomeje in dinoflagelati. Vsaka fitoplanktonska združba si prizadeva ostati v primernih svetlobnih razmerah dovolj dolgo, da uspešno zaključi rast in razmnoževanje. Poleg osnovnih fizioloških zahtev glede svetlobe in temperature so zelo pomembna tudi hranila ter mnogi drugi fizikalno kemijski dejavniki. Za razvoj fitoplanktonske populacije so prav tako pomembne biološke povezave med organizmi, tako v populaciji sami kot tudi povezave med organizmi različnih populacij.

Cianobakterije so se pojavile pred približno 3 milijardami let. Njihova fotosintezna aktivnost je sprožila oksidacijo zemeljske atmosfere in s tem je nastalo življenje, kot ga poznamo danes. Tako so cianobakterije prisotne v skoraj vseh habitatih. Živijo lahko kot simbionti gliv, spužev, rastlin ali drugih organizmov; predvsem so znane kot sestavni del fitoplanktona v morjih in sladkovodnih ekosistemih. Ob ugodnih pogojih, kot je eutrofikacija, se cianobakterije tako namnožijo, da popolnoma prevladajo v vodnem telesu. Eutrofikacija je proces povečanja količine hranilnih snovi, zlasti fosforja in dušika. S prostim očesom težko zaznamo cvetenje cianobakterij, razen kadar se pojavi na površini, kar zaznamo kot obarvanost vode, ki je značilno modrozeleno ali rdeče barve. Vsako cvetenje enega samega rodu ali vrste izriva vse druge in tako zmanjšuje biotsko pestrost organizmov v vodnem telesu. Kopičenje velikega števila cianobakterij na površini in v vodnem stolpcu ovira prodiranje svetlobe v globino. Cianobakterije z intenzivnim razvojem odvezemajo hranilne snovi drugim planktonskim organizmom. Vse to vodi v siromašenje ekosistema ne glede na količino organske mase v vodi.

Večina rodov cianobakterij tvori biološko aktivne snovi, cianotoksine. To so toksini, ki škodujejo organizmu, tako da onemogočijo pravilno delovanje organizma. Dokaz toksičnosti cianobakterijske populacije v določenem vodnem telesu še ne pomeni večje ogroženosti živali, ljudi ali okolja, dokler je populacija maloštevilna in enakomerno razpršena. Resnična grožnja nastopi šele ob masovnem pojavljanju, predvsem v obliki površinskih cvetov ali gošč. Cianotoksini se v fazi rasti cveta stalno sproščajo v vodno telo. Masovno se sprostijo šele ob propadu cveta (odmiranje). Pri tem se poveča število heterotrofnih bakterij. Ogromne količine odmrle organske mase v procesu razgradnje odvezemajo v vodi raztopljen kisik, zaradi česar pride do anoksije (pomanjkanje kisika), do pomora rib in večine od trajne prisotnosti kisika odvisnih organizmov, sproščajo se toksični metaboliti, kar vse vodi v zniževanje biodiverzitete in ogrožanja zdravja vseh, ki prihajajo v stik s takšnim vodnim telesom.

1.1 Namen in cilji naloge

Površinski cvet cianobakterij je za okolje nevaren, saj tako v fazi rasti kakor tudi ob propadu v vodno telo sprošča cianotoksine, ki so strupeni za različne organizme. Moteča je tudi njihova fizična prisotnost saj z intenzivnim razmnoževanjem cianobakterije odvezemajo svetlobo in hranilne snovi drugim planktonskim vrstam in s tem zmanjšujejo biodiverzitetu v vodnem telesu. Kadar so cianobakterije enakomerno razpršene v vodnem telesu, vplivajo predvsem na živa bitja, ki v njem bolj ali manj stalno prebivajo. Ob tvorbi površinskega cveta se cianobakterije skoncentrirajo na vodni površini in tako postanejo še posebej nevarne za kopenske organizme, ki iz različnih vzrokov obiskujejo vodna telesa. To so lahko različne živali, ki se bodisi napajajo ali hranijo v njih, tja do človeka, ki takšen vodni vir uporablja pri vsakdanjih opravilih ali za rekreacijo.

Ugotavljali smo, kako je cianobakterijski cvet razporejen po vodnem telesu, njegovo vertikalno gibanje in vrstno sestavo. Z opazovanji v naravi in v laboratoriju s pomočjo mikroskopije smo poskusili razložiti vpliv cianobakterijskega cveta na pojavljanje drugih fitoplanktonov ter preverili, kako kraj vzorčenja vpliva na vrstno sestavo površinskega cveta.

Pomemben je tudi dnevni cikel migracije cianobakterij in vpliv okolja na vrstno sestavo. To smo spremljali z analizo sestave fitoplanktona v površinskem cvetenju v času s poudarkom na določevanju vrste in velikosti populacije cianobakterij.

Nadzirali in analizirali bomo površinsko cvetenje cianobakterij na različnih lokacijah po Sloveniji.

1.1.1 Hipoteze

Predpostavili smo naslednji hipotezi:

Prevlada cianobakterij v samem cvetu bo izpodrinila druge fitoplanktonske vrste. Tako v samem cvetu ne bo drugih organizmov oziroma se bo njihova populacija zmanjšala.

Zaradi fotoavtotrofne narave cianobakterij bodo različna obdobja dneva vplivala na zunanji izgled in morfološko ter vrstno sestavo površinskih cvetenj.

2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV

2.1 Fitoplankton

Fitoplankton so mikroskopski organizmi, ki živijo v vodnih okoljih, tako slanih kot tudi sladkih. Fitoplankton sestavlja mnogo različnih združb in populacij. Gibanje fitoplanktona ni aktivno, saj je v največji meri odvisno od gibanja vodnih mas. Nekateri fitoplanktoni lahko v manjši meri uravnavajo svoje gibanje s pomočjo bičkov. Gostota fitoplanktonskih organizmov je le malce višja od gostote vode, zato organizmi, ki nimajo posebnih prilagoditev, v vodnem okolju brez prisotnosti tokov in mešanja vodne mase počasi tonejo. Fitoplanktonski organizmi so pomembni primarni producenti in sodelujejo pri samočistilnih procesih v vodnih ekosistemih. Prisotnost ali odsotnost določenih vrst kaže na prizadetost ekosistemov. V večini primerov prihaja do osiromašenja vrst in do kvantitativnega povečanja tistih, ki so bolj prilagojene določenim spremembam v okolju.

Nekateri fitoplanktoni so bakterijskega izvora, drugi so protisti, prevladujejo bakterije in enocelične rastline. Običajno so ti predstavniki cianobakterij, zelenih alg, diatomej in dinoflagelatov. Prisotnost fitoplanktona je s prostim očesom težko zaznati. Zaznamo ga takrat, ko se na površju vode tvori cvet, to je masovna namnožitev fitoplanktonskih celic ob ugodnih razmerah v relativno kratkem času.

2.2 Cianobakterije

Cianobakterije predstavljajo skupino prokariontskih fotoavtotrofov, ki so morfološko zelo raznolike. So sestavni del fitoplanktona tako v morjih kot v sladkovodnih ekosistemih. Najdemo jih tudi na kopnem, npr. v tleh ali na vlažnih površinah, kot so zidovi in skale. Lahko živijo kot simbionti gliv, spužev, rastlin in drugih organizmov. Za svojo rast in razvoj uporabljajo sončno svetlobo. Cianobakterije vsebujejo poleg klorofila a, ki je značilen za vse avtotrofne organizme, tudi pomožna fotosintezna barvila, kot sta fikocianin in fikoeritrin. Kadar prevladuje fikoeritrin, je cvetenje obarvano rdeče rjavkasto oziroma črno, sicer je obarvano modro-zeleno. Tvorbo teh barvil lahko uravnavajo tako, da kar najbolje izkoristijo razpoložljivo svetlobo (Raps in sod., 1983; Sedmak in sod., 2009^a).

2.2.1 Taksonomija cianobakterij

Rastline in živali imajo značilnosti, po katerih jih lahko zanesljivo razvrščamo v ustrezne taksonomske kategorije. Mikrobiološka sistematika je mnogo bolj zapletena. Cianobakterije so še posebej zahtevna skupina za razvrstitev. So ena najstarejših skupin organizmov na zemlji. Nekateri predstavniki fosilov imajo morfologijo, ki je zelo podobna današnjim vrstam (Knoll, 2008).

Zgradbo in organizacijo cianobakterij proučujemo s pomočjo svetlobne in elektronske mikroskopije. Najbolj preprosta delitev je glede na osnovno morfologijo. Tako jih lahko razdelimo na krogličaste enocelične ali kolonijske ter na mnogocelične nitaste (filamentozne), ki so lahko razvejane ali nerazvejane. Posamezne celice cianobakterij so občutno manjše od večine alg, čeprav so njihove kolonije lahko vidne s prostim očesom. Posamezne celice sladkovodnih cianobakterij so v povprečju premera nekaj mikrometrov, medtem ko lahko njihove kolonije, skupki ali filamenti presegajo dolžino enega milimetra. Taksonomska klasifikacija je primarna metoda za ocenjevanje raznolikosti vseh bioloških skupin organizmov.

2.2.1.1 Krogličaste cianobakterije (*Chroococcales*)

Za ta red so značilne majhne celice v premeru nekaj mikrometrov. Te imajo lahko sferično obliko, so jajčne ali cilindrične oblike. Celice se lahko združujejo v kolonije, pri čemer jih drži sluzast matriks, ki se izloča med rastjo (Eleršek, 2014). Velike kolonije so lahko vidne celo s prostim očesom. Mlade kolonije so običajno okrogle oblike, vendar sčasoma postanejo nepravilnih oblik in perforirane (Slika 1).



Slika 1: Primer perforirane kolonije *Microcystis aeruginosa* (Foto: Drolc T.).

Tipični predstavniki reda *Chroococcales* so *Aphanocapsa sp.*, *Aphanothece sp.*, *Gleocapsa sp.*, *Merismopedia sp.*, *Microcystis sp.*, *Synechococcus sp.* in *Synechocystis sp.* Predstavniki, na katere smo naleteli pri naših taksonomskih analizah, so *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Microcystis viridis*, *Microcystis wasenbergi*, *Woronichinia naegeliana*.

2.2.1.2 Nitaste cianobakterije

Filamentozna morfologija je posledica ponavljajočih se delitev celic v eni ravnini. Večcelična struktura, sestavljena iz verig celic, se imenuje trihom. Trihom je lahko raven ali zavit. Velikost in oblika celic kažejo veliko variabilnost med nitastimi cianobakterijami (Eleršek, 2014).

Oscillatoriales

Sem uvrščamo nitaste cianobakterije, ki so znane po svojem nihajočem gibanju. Vlakna v kolonijah lahko drsijo naprej in nazaj, eno proti drugemu, dokler se celotna masa ne preusmeri proti primernemu svetlobnemu viru. Različni skupki so sestavljeni iz filamentov celic, ki se lahko razbijejo na krajše filamente. Ne tvorijo heterocist in akinet. Razpoke na filamentu se običajno pojavijo, kadar so znotraj filamenta prisotne mrtve celice. Vsak filament je sestavljen iz trihomov oziroma nitk, ki je sestavljen iz vrste celic (Eleršek, 2014).

Tipični predstavniki redu *Oscillatoriales* so *Oscillatoria sp.*, *Planktothrix sp.*, *Phormidium sp.*, *Lyngya sp.*, *Leptalyngbya sp.* in *Microcoleus sp.*

Nostocales

Filamenti se pojavijo bodisi posamezno ali v skupkih. Lahko so prosto plavajoči ali v ovoju. Trihomi so ravni, vbočeni ali nepravilno usločeni. Trihomi so enake debeline ali proti koncu nekoliko zašiljeni. Celice so običajno okrogle in sodčkaste oblike, redko valjaste. Tvorijo

heterociste in akinete. V heterocistah poteka fiksacija dušika. Heterociste so običajno enake oblike kot vegetativne celice, včasih nekoliko večje. Akinete služijo shranjevanju rezervnih snovi, kar jim omogoča preživetje v neugodnih razmerah. Razvijajo se le ob heterocistah, blizu njih ali v obeh položajih. So večje od vegetativnih celic in na splošno valjaste z zaobljenimi konci (Eleršek, 2014).

Tipični predstavniki redu *Nostocales* so *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Calothrix sp.*, *Cylindrospermopsis sp.*, *Nostoc sp.*, *Scytonema sp.* in *Tolypothrix sp.*

Zaradi zmožnosti vezave atmosferskega dušika so cianobakterije pogosto prisotne tudi v vodah, kjer dušika primanjkuje. S pomočjo encima nitrogenaze pretvarjajo atmosferski dušik neposredno v amonijak, s čimer pridobijo veliko prednost pred drugimi organizmi.

Iskanje ugodnega okolja glede na koncentracije prisotnih hranil v dnevno-nočnem ciklu poteka pri cianobakterijah s spreminjanjem sposobnosti lebdenja, ki ga uravnavajo z nastankom znotrajceličnih plinskih vakuol in nalaganjem stranskih produktov metabolizma, kar je povezano s fotosintezo aktivnostjo (Walsby, 1994). Aktivno uravnavanje lebdenja jim omogoča najti optimalne razmere za razvoj tako glede hranil kakor tudi svetlobe in temperature (Paerl, 1988). Tudi kinetika privzemanja ogljikovega dioksida daje cianobakterijam v primerjavi z drugimi fitoplanktonskimi organizmi veliko prednost (Lucas in sod., 1985).

2.2.2 Tipi cvetenj cianobakterij

Cianobakterije so v fitoplanktonski združbi celinskih voda zelo uspešna in mnogokrat prevladujoča skupina. Na splošno velja, da planktonske cianobakterije v zmernem podnebnem pasu v poletnem obdobju prevladujejo. V evtrofnih in hiperevtrofnih vodnih telesih so cvetenja najbolj izrazita (Reynolds, 1980; Sedmak in Kosi, 2002). Cvetenje cianobakterij je naraven pojav, spontan ali izzvan z neodgovornim ravnanjem človeka.

V Sloveniji imamo veliko število površinskih voda, različnih velikosti in izvora. Toksične cianobakterije cvetijo predvsem v severovzhodni Sloveniji, kjer so površinske vode močno evtrofne (Sedmak in Kosi, 1997; 1998). Masovno pojavljanje cianobakterij je v večini primerov vezano na poletna in jesenska obdobja, ko pride do poletne razslojenosti vode z najvišjimi temperaturami na površini. Cianobakterije se v ugodnih razmerah pogosto prekomerno namnožijo in lahko najprej v tanki, kasneje v debelejši plasti (do 10 cm) prekrijejo vodno površino in tako nastane površinska gošča.

V Sloveniji obstajajo tri osnovne vrste cianobakterijskega cvetenja, ki se razlikujejo po izvoru hranil (Sedmak in Kosi, 2002):

- planktonsko cvetenje nastopa v evtrofnih in hiperevtrofnih vodnih telesih s hranilnimi snovmi, ki so razpršene v vodi in kjer je razpoložljivost hranil odvisna od dnevne stratifikacije (to so vse cianobakterije, ki tvorijo površinski cvet),
- metalimnijsko cvetenje se tvori v globljih mezotrofnih in evtrofnih rezervoarjih in na videz oligotrofnih jezerih, kjer so hranila na voljo kot posledica sezonske stratifikacije (pretežno filamentne vrste),
- bentoško cvetenje se tvori v evtrofnih in mezotrofnih plitvih vodah, kjer bentoške cianobakterije uporabljajo hranila neposredno iz sedimenta.

Planktonsko cvetenje se lahko razdeli na več oblik cvetenja, ki je odvisno od številčnosti cianobakterij, podnebnih in meteoroloških razmer:

- Razpršeni cvetovi se pojavijo na začetku tvorbe cveta ali se oblikujejo sekundarno kot posledica vertikalnega mešanja, ki ga povzročajo višje hitrosti vetra (George in Edwards, 1976). V takih okoliščinah so slabše svetlobne razmere predvsem posledica medsebojnega senčenja planktona. Komunikacije med cianobakterijami ovirajo razdalje med celicami in kolonijami.
- V bistrih stratificiranih jezerih se pojavijo cvetenja v metalimniju, kjer se zaradi mobilizacije hranil z dna vzpostavijo nasprotujoči gradienti svetlobe in hranil (Ganf in Oliver, 1982). V zgornjih plasteh so svetlobni pogoji dobri, cianobakterije se pozicionirajo s pomočjo regulacije plovnosti (Reynolds in Walsby, 1975). Razdalje med posameznimi cianobakterijami so kratke in zaradi mirnih razmer v notranjosti vodnega telesa so možni različni načini in oblike komunikacije med cianobakterijami.
- Površinski cvet se pojavi v mirnem vremenu in dobrem osončenju, pri čemer je hitrost vetra nižja od 2-3 m/s, kar povzroči nizke stopnje mešanja (Webster in Hutchinson, 1994). Svetlobni pogoji pod cvetom so slabi; cianobakterije rešuje regulacija plovnosti. Cianobakterije se nenehno selijo proti površini v stalni izmenjavi celic in kolonij na površini cvetenja. Pod takimi pogoji lahko površinska cvetenja povzročijo napačen vtis obstojne populacije cianobakterij na površini (Krompkamp in Walsby, 1990). Kljub neprekinjeni vertikalni migraciji imajo cianobakterije več možnosti, da pridejo v tesen stik. Različne oblike komunikacije so možne tudi zaradi nizke stopnje mešanja in nizkih stopenj redčenja.
- Gošča (ang. scum) nastaja iz dolgotrajnih cvetenj, kjer je fizična omejitev vertikalnega gibanja (Walsby 1994). Cianobakterijska gošča skoraj popolnoma prepreči prodiranje svetlobe v globlje plasti. Kolonije in celice na površini so pogosto močno poškodovane zaradi visoke intenzivnosti svetlobe, ki povzročajo dehidracijo in lahko vodijo do staranja celic in njihove lize. V tem primeru so cianobakterije v tesnem stiku med seboj; lizo lahko inducirajo tudi cianofagi in drugi mikroorganizmi. Celotna združba vključno s cianobakterijami je zato izpostavljena visokim koncentracijam biološko aktivnih snovi, ki se sproščajo iz razpadajočih celic.

Morfologija tipov cvetenja in njihovih različnih oblik je ključnega pomena za razumevanje interakcij med fitoplanktonom in biološko aktivnimi snovmi cianobakterij, ki so med cvetočimi dogodki vedno prisotne v okoljsko pomembnih koncentracijah (Sedmak in sod. 2008; 2009^a).

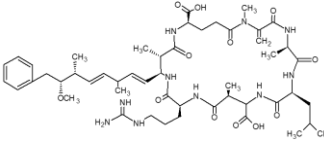
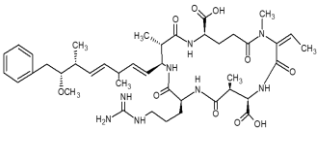
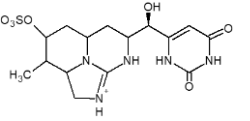
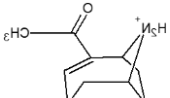
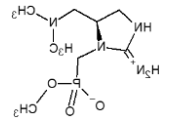
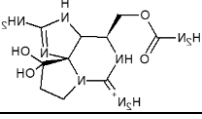
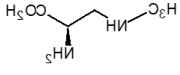
2.2.3 Biološko aktivne snovi

Ena izmed skupin biološko aktivnih snovi so tudi toksini. Toksin je čista snov, ki jo proizvede živ organizem (bakterija, rastlina ali žival) in povzroči poškodbo ali poslabšanje zdravja živega organizma.

O evtrofnih vodah se pogosto poroča, da vsebujejo visoke koncentracije biološko aktivnih snovi, kar je posledica visoke koncentracije cianobakterij. Večina rodov cianobakterij tvori cianotoksine. To so naravni toksini, ki spadajo v skupino naravnih strupenih snovi. Čeprav cianotoksini izvirajo iz vodnih organizmov, predstavljajo grožnjo za kopenske in za vodne organizme. Cianotoksini se tudi v fazi rasti cveta stalno sproščajo v vodno okolje; masovno se sprostijo šele ob propadu cveta. Obstoj toksične cianobakterijske populacije v določenem vodnem telesu še ne pomeni večje ogroženosti ljudi ali okolja, dokler je populacija maloštevilna

in enakomerno razpršena po vodnem telesu. Resnična grožnja nastopi šele ob masovnem pojavljanju predvsem v obliki površinskih cvetenj in gošč.

Preglednica 1: Različni cianotoksini in njihov način delovanja na organizem (povzeto po: Huisman, 2018).

Toksin	Struktura	Glavni rodovi	Način delovanja	Toksični učinek
Mikrocistin		<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Planktothrix</i> in <i>Synechococcus</i>	Inhibicija evkariontskih proteinskih fosfatov	Poškodba jeter in ledvic, gastroenteritis, promotor za nastanek tumorja, zmanjšano popravilo DNA in reproduktivna toksičnost
Nodularin		<i>Nodularia</i>	Inhibicija evkariontskih proteinskih fosfatov	Podobni učinki kot pri mikrocistinu.
Cilindrospermopsin		<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Chrysochloris</i> in <i>Raphidiopsis</i>	Inhibicija sinteze proteinov, poškodba DNA in celična smrt	Poškodbe večjih organov, gastroenteritis in genotoksičnost
Anatoksin-a		<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Oscillatoria</i> in <i>Phormidium</i>	Holinergičen agonist, tekmuje z acetilholinom za vezavo na nikotinske in muskarinske receptorje	Izguba koordinacije, respiratorna odpoved
Anatoksin-a(s)		<i>Dolichospermum</i>	Inhibicija acetilholinesteraze	Slinjenje, inkontinenca, izguba koordinacije, respiratorna odpoved
Saksitoksini		<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> in <i>Dolichospermum</i>	Blokada napetostno odvisnih natrijevih kanalov nevronov	Parestezije, odrenelost, paraliza in odpoved dihal
BMAA		<i>Microcystis</i> , <i>Nostoc</i> ...	Poškoduje motorične nevrone	Izguba koordinacije, mišična atrofija in možni prispevki k živčnim boleznim, kot je Alzheimerjeva bolezen
Lipopolisaharidi		Vse cianobakterije	Vnetje in spodbujanje produkcije citokinov	Draženje kože, vročina in prebavne motnje

Cianobakterije proizvajajo vrsto biološko aktivnih snovi, ki učinkujejo na različne tarčne organe (Preglednica 1). Delimo jih na ciklične peptide, kot so mikrocistini in nodularini s

hepatotoksičnim delovanjem, na alkaloide s hitrim nevrotoksičnim delovanjem, kot so anatoksin in saksitoksin, in take z odloženim delovanjem, kot je inhibitor proteinske sinteze cilindrospermopsin, ki ga uvrščamo med citotoksine. V zadnjem obdobju so v vseh poglavitnih rodovih cianobakterij ugotovili prisotnost neproteinske nevrotoksične aminokisliline L-BMAA (β -N-metilamino-L-alanin). Povezujejo jo z nastankom smrtno nevarne nevrološke Parkinsonove bolezni (Kurland, 1988).

2.3 Dejavniki, ki vplivajo na nastanek površinskega cveta

Na razvoj fitoplanktonske populacije vplivajo številni fizikalno-kemijski dejavniki, kot so svetloba, temperatura, hranilne snovi, razlike v dolžini dneva in noči, mešanje vode in padavine. Na manjša vodna telesa bolj vplivajo dejavniki, kot so razlike v dolžini dneva, temperatura, mešanje zaradi vetra, padavine in izpiranje ter dotok hranil (Sedmak in Kosi, 1998). Razmere v okolju niso vedno optimalne za vse fitoplanktonske vrste, zato se različne vrste pojavljajo in prevladujejo v različnih obdobjih leta in na različnih globinah (Reynolds, 2006). Vsi dejavniki, ki vplivajo na razvoj fitoplanktonskih populacij, vplivajo tudi na njihovo masovno pojavljanje ali cvetenje.

2.3.1 Svetloba

V vodnih sistemih je svetloba eden izmed najpomembnejših dejavnikov, ki vpliva na rast in razmnoževanje fitoplanktona. Svetloba, ki je na razpolago, je odvisna tudi od motnosti vode. Motnost je lahko posledica suspendiranih organskih in anorganskih delcev in/ali fitoplanktonskih organizmov. Tako mnogokrat pride do samo-senčenja, kar zavira nadaljnje povečanje produktivnosti ne glede na to, da je na razpolago dovolj hranil.

Cianobakterje v primerjavi z zelenimi algami lahko izkoriščajo nižje intenzitete svetlobe. Izraba razpoložljive svetlobe je v vodnih telesih zelo nizka, običajno manj kot 1 % svetlobe, ki pride do vodne površine, kar je mnogo manj od izrabe svetlobe pri fotosintezi kopenskih organizmov (Wetzel, 1975). Količina svetlobe se z globino manjša; na to vpliva tudi število planktonskih organizmov in drugih razpršenih delcev v zgornjih plasteh vode. Na vodni gladini je koncentracija fitoplanktona majhna, saj je svetloba za večino vrst še posebej poleti premočna. Le redke vrste, odporne proti poškodbam, ki jih povzročajo UV žarki in močna osvetljenost, se zadržujejo na površini (Mur in Schreurs, 1995). Študije na različnih vrstah cianobakterij (*M. aeruginosa*, *Oscillatoria agardhii* in *Aphanizomenon flos-aquae*) podpirajo domnevo, da je večina cianobakterij v celinskih vodah izjemno občutljiva na visoke intenzitete svetlobe (Mur, 1998). Zato je uravnavanje položaja v vodnem stolpcu zelo pomembno. Nekaterne vrste fitoplanktona z učinkovito regulacijo vzgona poiščejo ustrezne intenzitete svetlobe v različnih plasteh vodnega stolpca in tam tvorijo gosto populacijo, medtem ko so vrste z manj učinkovito regulacijo bolj odvisne od mešanja vodnih mas (Mur, 1998).

V naravnih cvetovih *Microcystis sp.* so majhne kolonije pred fotoinhibicijo zaščitene z velikimi kolonijami, ki prevladujejo v zgornjih plasteh (Ibelings in Mur, 1992). Fototrofni organizmi v vodnih telesih so izpostavljeni gibanju vodnih mas zaradi pretočnosti vodnega telesa ali zaradi vetra in izmenjujočim periodam svetlobe ter teme. Celoten izkoristek pretvorbe svetlobne energije v biomaso igra pomembno vlogo pri kompeticiji med fitoplanktonskimi organizmi.

2.3.2 Hranila

V določenih razmerah v okolju specifične fiziološke lastnosti cianobakterijam zagotavljajo prilagoditvene prednosti. Sposobnost vezave atmosferskega dušika omogoča nekaterim

rodovom, da prevladajo, kadar primanjkuje v vodi raztopljenega dušika. Poleg tega so cianobakterije sposobne shranjevati relativno velike količine fosforja in dušika. To predstavlja prednost pred drugimi fitoplanktonskimi organizmi, kadar so koncentracije hranil v vodi zelo spremenljive. Kadar primanjkuje anorganskih hranil, so mnogi fitoplanktonski organizmi sposobni uporabiti hranila v obliki različnih organskih molekulah, česar večina fotoavtotrofov ni sposobna (Reynolds, 2006).

Količina hranil med poletno razslojenostjo vodnega telesa z globino narašča. V zgornjih plasteh primanjkuje fosforjevih in dušikovih spojin, zato je v teh plasteh rast fitoplanktonskih vrst omejena predvsem s količino razpoložljivih hranil. V globljih plasteh je hranil dovolj, vendar pogosto ni dovolj svetlobe za učinkovito fotosintezo (Reynolds, 2006). V celinskih vodah, ki so bogate s hranili, prihaja pogosto do masovnega razvoja cianobakterij.

2.3.3 Dnevno nočni cikel

Rast je lahko zmanjšana tudi zaradi zmanjšane svetlobe v določenih časovnih periodah. Celice rastejo med svetlo periodo z energijo iz fotosinteznih reakcij in med temno periodo s porabo zalog ogljikovih hidratov. V stacionarni fazi rasti se zaloge, nastale med svetlo periodo, v temni periodi popolnoma porabijo. Zaloga ogljikovih hidratov je največja na koncu svetle faze in lahko znaša do 40 % suhe teže. Povečanja biomase med svetlo periodo ne smemo pripisati samo rasti, temveč tudi proizvodnji in kopičenju ogljikovih hidratov. Uporaba razpoložljive energije je zelo natančno uravnana; sinteza proteinov se povečuje z zniževanjem koncentracije ogljikovih hidratov (Mur, 1998).

Za razvoj cianobakterijskega cveta je pomembna tako dnevno/nočna razslojenost kot sezonska, ki je pomembna predvsem v klimatih z letnimi časi (Reynolds, 2006). Mur (1998) poroča, da v nerazslojenih plitkih jezerih velikokrat prevladuje rod *Microcystis*, medtem ko se v razslojenih jezerih cianobakterije običajno s pomočjo vakuol zadržujejo le na točno določeni globini, kot npr. *Planktothrix rubescens* (*Oscillatoriales*). Najpomembnejši rodovi so: *Microcystis*, *Planktothrix* in *Anabaena*. Ugotovil je, da sta v jezerih z dalj časa trajajočim pomanjkanjem dušika zelo pogosta rodova *Anabaena* in *Aphanizomenon*, ki sta sposobna fiksacije dušika iz zraka.

2.3.4 Temperatura

Različne vrste cianobakterij imajo optimalno rast pri različnih temperaturah. Vrsta *Planktothrix rubescens* (prej *Oscillatoria*) na primer lahko preživi celo zimo pod ledom (primer Blejsko jezero; Sedmak in Kosi, 2002). Druge uspevajo pri višjih temperaturah in se masovno razvijajo v poletnih mesecih na površini vodnih teles (Shapiro, 1990).

Zviševanje temperature krepi ne le vertikalno stratifikacijo, temveč tudi zmanjšuje viskoznost vode (Hutchinson, 1957). Po Stokesovem zakonu je navpična hitrost, ki jo dosežejo majhni organizmi, kot so cianobakterije in drugi fitoplanktoni, obratno sorazmerno z viskoznostjo (Reynolds, 2006). Zato višje temperature znižujejo upor vode pri vertikalni migraciji fitoplanktona. To olajša nastanek površinskega cvetenja z lebdečimi cianobakterijami, kar je naklonjeno hitri vertikalni prilagoditvi migracije cianobakterij za optimizacijo pridobivanja hranil in svetlobe. Nasprotno, diatomeje, ki nimajo sposobnosti uravnavanja lebdenja, utrpijo višje sedimentacijske izgube, kadar se zniža viskoznost vode. Ti nasprotni odzivi še povečujejo konkurenčno prednost plavajočih cianobakterij nad potopljenimi diatomeji v stratificiranih vodnih telesih (Jöhnk in sod., 2008). Dokazano je bilo celo, da lahko gost cianobakterijski cvet na lokalni ravni poveča temperaturo vode, in sicer z intenzivno absorpcijo svetlobe. V študijah

daljinskega zaznavanja so Kahru in njegovi sodelavci (1993) ugotovili, da so temperature v Baltskem morju v cvetu vsaj za 1,5 °C nad okoliškimi vodami. Druga študija, ki so jo izvedli Ibelings in sodelavci (2003), je dokumentirala, da je bila površinska temperatura v cianobakterijskem cvetu v jezeru IJsselmeer na Nizozemskem za 3 °C višja kot v okoliških površinskih vodah. To bi lahko predstavljalo pomemben mehanizem pozitivnih povratnih informacij, pri katerem plavajoče cianobakterije lokalno povišujejo površinske temperature, kar spodbuja njihovo prevlado nad drugimi organizmi (Hense, 2007).

2.3.5 Stabilnost vodnega stolpca

Cianobakterijsko cvetenje spodbujajo mirni, vertikalno stratificirani pogoji z ustreznimi zalogami hranil in šibkim vetrom (Huisman in sod., 2004). V primeru destratifikacije z vetrom ali pretokom lahko cianobakterije izgubijo svojo konkurenčno prednost, kar skupaj s poškodbami celic in filamentov zaradi povečane turbulence hitro privede do razpustitve površinskega cianobakterijskega cveta. Kadar se ob istem času pojavi šibka stratifikacija med obdobjem rasti, se lahko cvetenje hitro ponovno pojavi. Šibka turbulenca lahko spodbudi lokalno kroženje hranil in poveča rast cianobakterij.

2.3.6 Mešanje, tonjenje in lebdenje fitoplanktona

Specifična teža planktona je običajno za 2 do 5 odstotkov večja od specifične teže vode, zato planktonski organizmi počasi tonejo. Čeprav je gibanje fitoplanktona v največji meri odvisno od mešanja vodnih mas, se fitoplankton, ki je sposoben uravnavanja položaja, čez dan zadržuje blizu vodne površine in počasi tone, da se izogne fotoinhibiciji, in proti večeru potuje navzgor. Če pride do pomanjkanja hranil na površini, celice potonejo. V drugi polovici dneva običajno potujejo navzdol. Negibljivi plankton, v smislu, da nima bičkov ali migetalk, tone zaradi gravitacije. Tonjenje oziroma usedanje celic zavirajo mikrotokovi in prilagoditve, kot so oljne kapljice in plinske vakuole v celicah, sluzaste ovojnice, izrastki, podaljšani deli celic, nastanek kolonij pri cianobakterijah ipd. (Reynolds, 2006). Nekaterе alge imajo sposobnost premikanja v vodi z bički. Pomikajo se v tisto plast, ki je za njihovo fotosintezno aktivnost najugodnejša. Vrste, ki so sposobne gibanja z bički, vplivajo na svojo vertikalno razporeditev tudi, ko pride do močnega mešanja vode zaradi vetra (Yamazaki in Kamykovski, 1991).

Cianobakterije s pomočjo znotrajceličnih plinskih vakuol potujejo navzgor ali vsaj upočasnijo tonjenje, medtem ko se s tvorbo balastnih snovi, ki so povezane s fotosintezno aktivnostjo, spuščajo v globlje plasti vode (Walsby, 1994). Poleg velikosti in gostote je za procese tonjenja in lebdenja zelo pomembna oblika celice. Delci različnih oblik tonejo počasneje kot sferične oblike enakih volumnov in gostote. Ta princip s pridom uporabljajo mnoge planktonske alge, npr. *Ceratium*, *Scenedesmus*, *Staurastum*, *Thalassiosira* (Reynolds, 2006).

2.3.7 Alelopatija, kompeticija

Razvoj cianobakterijskega cveta je v veliki meri odvisen od fizikalnih in kemijskih ter v manjši meri tudi od nemetabolnih (kompeticija) in metabolnih (alelopatija) vplivov drugih fitoplanktonov (Keating, 1977). Alelopatija pomeni zaviranje rasti ene rastlinske vrste z drugo zaradi sproščanja biološko aktivnih snovi v okolje. Odzive različnih fitoplanktonskih vrst v toksičnem cvetu lahko pripišemo tudi različnim fiziološkim stanjem ali aktivnemu spreminjanju okolja z biološko aktivnimi snovmi, ki jih dominantne cianobakterije proizvajajo in izločijo v okolje.

Schagerl in sod. (2002) so raziskovali alelopatijo med cianobakterijami in algami v evtrofnem jezeru. Masovno pojavljanje cianobakterij je sovpadalo z velikim zmanjšanjem števila zelenih alg. Poleg sprememb v koncentracijah hranil tudi alelopatski učinki lahko prispevajo k prevladovanju cianobakterij. Vpliv alelopatije so raziskovali s testom difuzije na ploščah. Vrste z nizko biomaso lahko ob pomanjkanju fosforja z izločanjem alelopatskih snovi vplivajo na vrste z visoko biomaso. Cianobakterije lahko pridobijo z izločanjem biološko aktivnih snovi bistveno prednost pred ostalimi fitoplanktonskimi kompetitorji. Tako lahko vplivajo na naravno številčnost in fotosintezno aktivnost fitoplanktonskih vrst.

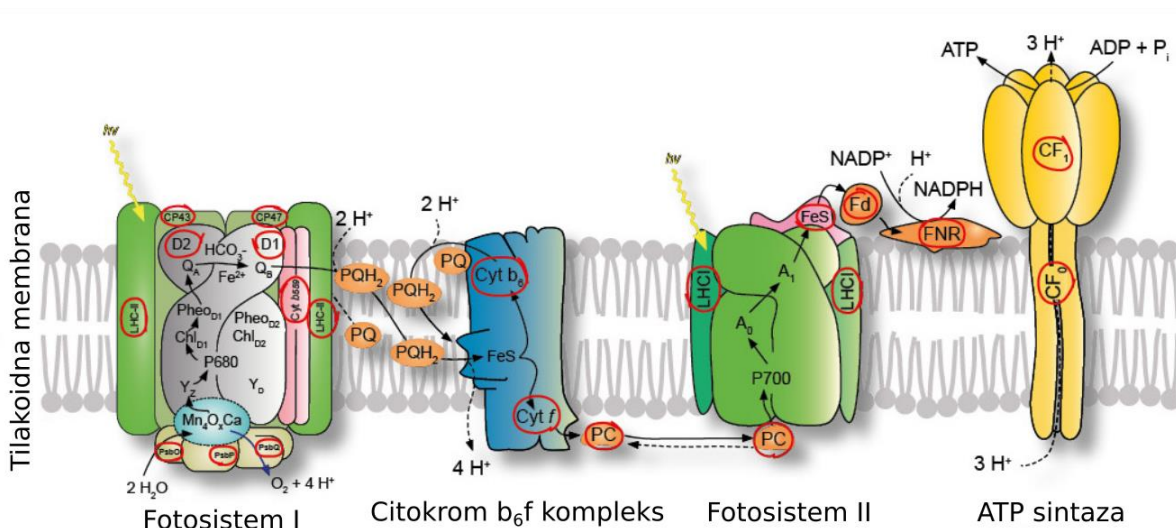
Vodni sistemi, kjer je pogosto cvetenje cianobakterije rodu *Microcystis*, imajo nekatere skupne značilnosti: nizek pretok vode, velik dotok hranil, visoke koncentracije dušika in/ali fosforja. V takih vodnih telesih je med fitoplanktonskimi organizmi vedno prisotna interspecifična kompeticija. Dominantne vrste lahko nadvladajo druge vrste glede na značilnosti prevzema hranil in izločanja različnih snovi v okolje, zato lahko v zmernih klimatih v poletnem času mnogokrat pride do nadvlade vrst rodu *Microcystis*.

V nepretočnih vodnih sistemih je za prevladovanje cianobakterij iz rodu *Microcystis* odgovornih več mehanizmov in ne samo kompeticija za hrano. Med mehanizmi za prevladovanje ene cianobakterijske vrste nad ostalimi fitoplanktoni so po mnenju Kuwata in Miyazaki (2000) poleg kompeticije zelo pomembni še naslednji mehanizmi: uravnavanje plavnosti s plinskimi vakuolami, povečanje velikosti z oblikovanjem kolonij in proizvodnja ter izločanje hepatotoksičnih cikličnih peptidov.

2.4 Mehanizem fotosinteze

Življenje na zemlji, kot ga poznamo danes, je odvisno od procesa fotosinteze, pri čemer se razvija kisik. Fotosinteza je proces, v katerem elektroni potujejo od vzbujenih molekul klorofila preko vrste elektronskih prenašalcev, ki spreminjajo svetlobno energijo v kemično. Ko neka molekula vsrka svetlobo določene valovne dolžine, preide elektron na višji energijski nivo. Vzbujena molekula se sčasoma vrne v osnovno stanje. Energija se sprosti v obliki fotooksidacije, emisije fluorescence (le 3-6 % celotne energije) in termičnega razpada oziroma sproščanja toplote (Voet in Voet, 2011).

Fotoavtotrofni organizmi uporabljajo svetlobno energijo sonca za pretvorbo ogljikovega dioksida v ogljikove hidrate. Poznamo dva fotokemična reakcijska sistema, imenovana fotosistem I (FS I) in fotosistem II (FS II). V obeh fotosistemih se energija fotonov iz sončne svetlobe uporablja za prenos elektrona preko tilakoidne membrane in linearne verige prenašalcev elektronov. Voda, ki oksidira v O_2 in $4H^+$ s FS II na notranji strani tilakoidov, deluje kot donor elektronov za celoten proces linearnega prenosa elektronov. Proces prenosa elektronov so povezani s kopičenjem razlike v koncentraciji protonov po tilakoidni membrani. Vzpostavitev elektrokemičnega potenciala poganja sintezo ATP iz ADP in anorganskega fosfata. FS I reducira feredoksin, ki zagotavlja elektrone za redukcijo $NADP^+$ v $NADPH$ s pomočjo $NADP^+$ reduktaze. $NADPH$ in ATP se sčasoma uporabita za redukcijo ogljikovega dioksida v ogljikove hidrate v poznejših temnih reakcijah (Slika 2).

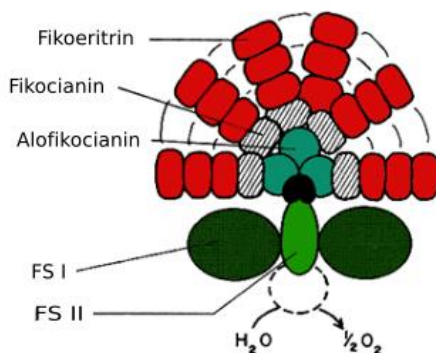


Slika 2: Shema delovanja fotosinteznega aparata (Prilagojeno po: Agrisera).

2.4.1 Fotosintezne značilnosti cianobakterij

Cianobakterije so fotoavtotrofni organizmi, ki proizvajajo kisik. Uporabljajo klorofil a in fikobiliproteine, ki delujejo kot glavni fotosintezni pigmenti. V zgodovini evolucije fotosintetskih organizmov so že pred nekaj milijardami let cianobakterije razvile visoko razvito linearno transportno verigo z obema fotokemičnima reakcijskima sistemoma, FS I in FS II (Green, 2001; Falkowski in sod. 2004). Oba fotosistema, ki ju poganja sončna svetloba, lahko izkoriščata elektrone iz vode in proizvajata molekularni kisik.

Fikobiliproteini absorbirajo sončno svetlobo valovne dolžine od 400 nm do 750 nm, da bi podprli učinkovito delovanje fotosinteze cianobakterij. V cianobakterijah so molekule klorofila a združene v FS I in FS II in so povezane z določenimi beljakovinskimi podenotami. Cianobakterije uporabljajo fikobiliproteine kot zunanje komplekse za pridobivanje svetlobe, da zagotovijo absorbirano energijo FS I in FS II (Green, 2001). Fikobiliproteini sestavljajo v ultra molekularni kompleks znan kot fikobilisom (Mimuro in sod., 2008). Prvotno so se razvili v prokariotskih cianobakterijah. S primarno endosimbiozo so jih dedovali evkariontski organizmi, kot so rdeče alge in glavkofiti (Mimuro in sod., 2008). Fikobilisomi so v cianobakterijah pritrjeni na površini tilakoidne membrane in pogosto na vrhu FS II (Slika 3).



Slika 3: Struktura fikobilisoma. Sestavljajo ga pomožni pigmenti fikoeritrin, fikocianin in alofikocianin (Prilagojeno po: Palaeos, Life through deep time).

Fikobilisom absorbira sončno svetlobo valovne dolžine, ki je klorofil ne more. Pridobljena svetlobna energija s fikobilisomi se pretežno prenese na FS II. Pod določenimi pogoji se lahko energija prenaša tudi v FS I s pomočjo fikobilisomov, ki se premikajo po tilakoidni membrani in se vežejo na FS I (Sun in sod., 2009). Na osnovi njihovih različnih absorpcijskih spektrov so fikobiliproteini razvrščeni v štiri skupine (Glazer, 1984; Zilinskas, 1986;):

- fikoeritrin $\lambda_{\max} = 490$ do 570 nm,
- fikocianin $\lambda_{\max} = 590$ do 625 nm,
- fikoeritrocianin $\lambda_{\max} = 560$ do 600 nm,
- alofikocianin $\lambda_{\max} = 650$ do 665 nm.

Cianobakterije tako lahko dobro uspevajo v okoljih, kjer zelene alge težko preživijo, izključno zaradi prisotnosti pomožnih pigmentov, ki lahko absorbirajo svetlobo valovnih dolžin, ki jih klorofil ni sposoben.

2.4.2 Fluorescenca fitoplanktona

Fitoplankton ima zelo ambivalenten odnos do svetlobe, saj svetlobo potrebuje za svoj obstoj. Istočasno jim prevelika količina svetlobe lahko škoduje zaradi povišane tvorbe škodljivih reaktivnih kisikovih zvrsti, ki so stranski produkt fotosinteze. Fotosinteza temelji na absorpciji svetlobe, ki vzbudi pigmente iz osnovnega v vzbujeno stanje.

Svetloba, ki jo absorbira fitoplankton se (Joseph, 2017):

1. uporabi za izvajanje fotosinteze,
2. delno pretvori v toploto,
3. delno odda v obliki fluorescence.

Fluorescenca razkriva spoznanja o fiziologiji fitoplanktona in učinkovitosti fotosinteze, saj se na osnovi količine razpoložljive svetlobe in hranil aktivirajo različni deli za energetske izkoriščanje. Tako nam meritve biomase omogočajo tudi vpogled v fiziološko stanje cianobakterij (Sedmak in sod., 2009b). Na podlagi fluorescence lahko znanstveniki določijo vzrok zmanjšanja populacije in natančne ocene primarne produktivnosti na svetovni ravni. Fitoplanktoni, izpostavljeni različnim okoliščinam, močneje fluorescirajo. Različne vrste fitoplanktona fluorescirajo z različno intenziteto.

Merjenje fitoplanktona je ključno za razumevanje stanja vodnega ekosistema. Satelitsko spremljanje barv na morju je dobro priznana metodologija za odkrivanje cvetenja fitoplanktona na velikih vodnih območjih. Metoda za razumevanje fizičnega stanja fitoplanktona spremlja fluorescenco, ki jo oddaja fitoplankton. Fluorescenčna emisija fitoplanktona je indikator fiziološkega stanja fitoplanktona. Tako, kot se obarvanost oceanov zaznava s sateliti, se lahko preko satelitov spremlja tudi fluorescenca .

Že od leta 1978 so znanstveniki lahko opazovali cvetenje fitoplanktona in spremljali velikost in gibanje populacij, vendar iz klorofilnih pasov satelitskih radiometrov niso mogli dobiti veliko podrobnosti o stanju ali učinkovitosti fitoplanktona. Najnovejši razvoj oceanografskega daljinskega zaznavanja omogoča raziskovalcem, da zaznajo fluorescenco fikocianina ali klorofila fitoplanktona na površju vodnega telesa. Znanstveniki so potrebovali podatke o fluorescenci, ki so zdaj na voljo iz spektrometra z zmerno ločljivostjo (MODIS), ki je bil uveden leta 2002. MODIS, ki se je začel na NASA satelitski platformi Aqua (NASA, EarthData)

z zmožnostjo zaznavanja fluorescence klorofila fitoplanktona za ocenjevanje fiziološkega stanja fitoplanktona, je prvi satelitski senzor za merjenje fluorescence klorofila iz vesolja. S to tehnologijo je mogoče izmeriti fiziološke spremembe v fitoplanktonskih skupnostih in ne le spremembe v velikosti populaciji (NASA, 2009).

Relativno ravnovesje teh procesov je pokazatelj fiziološkega stanja fitoplanktona. Meritve fluorescence nam omogočajo, da iz vesolja vidimo rahel rdeč sij fitoplanktona po vsem svetu in sklepamo, v kakšnem fiziološkem stanju so. Kadar se starost fitoplanktona ali razpoložljivost hranil zmanjša, se to pokaže na fiziološkem stanju fitoplanktona. V takih razmerah odvečno sončno energijo, ki je ne morejo porabiti s fotosintezo, oddajajo v obliki fluorescence v neobičajno povišani meri. Ko celice fitoplanktona učinkovito absorbirajo svetlobo za fotosintezo, je delež, ki ga oddajajo kot fluorescenco manjši. Relativno nizka fluorescenca kaže na območje, kjer je fitoplankton v dobrem fiziološkem stanju (ni podvrženo različnim stresnim okoliščinam) (Joseph, 2017).

Instrumenti za daljinsko zaznavanje zaznajo cvetenje in spremljajo njihov napredek. Podatki o fluorescenci zagotavljajo natančnejše informacije o tem, kako fitoplankton uporablja svetlobo. Te informacije bi lahko privedle do natančnejših modelov primarne produkcije in znanstvenikom omogočile bolj natančno informacijo o tem, kako spremembe v ekosistemu vplivajo na populacije alg.

2.5 Monitoring cvetenja cianobakterij

Cvetenje fitoplanktona je postalo globalno vprašanje javnega zdravja in vitalnosti ekosistema. Razširjenost cvetenja se je povečala zaradi segrevanja vode in dodatnih vnosov hranil v vodne sisteme (Wells, 2015). Lokalne oblasti, ki so odgovorne za nadzor kakovosti voda, se pogosto soočajo z zahtevno nalogo površinskega cvetenja. Trenutno se uporabljajo različne biološke, biokemične in fizikalno-kemijske metode oziroma pristopi za spremljanje cianobakterijskih cvetenj in odkrivanje mikrocistinov v sladkovodnih telesih. Ker se te metode lahko razlikujejo glede na informacije, ki jih zagotavljajo, se zdi, da noben pristop ni dovolj ustrezen za natančno spremljanje cvetenja. V Sloveniji se izvaja monitoring kakovosti jezer v skladu z zahtevami direktive o vodah. Monitoring kakovosti površinskih voda izvaja Agencija Republike Slovenije za okolje. V okviru državnega monitoringa površinskih voda se preverja kemijsko stanje ter ekološko stanje, pri čemer se upošteva tudi biološki element fitoplankton, vendar tu ni nadzora cianobakterij ter njihovih toksinov. V monitoringu kopalnih voda, se senzorično tudi oceni spremembo barve vode in morebitno prisotnost pene ali gošče na površini voda zaradi cvetenja. Ob pojavu le-tega se občasno izvede tudi meritve koncentracije klorofila-a in analizo vrstne sestave fitoplanktona, po potrebi tudi analizo prisotnosti cianotoksinov. Monitoring se izvaja v času kopalne sezone in sicer je potrebno analizirati vsaj 4 vzorce kopalne vode, vključno z vzorcem pred kopalno sezono (ARSO, 2018). Monitoring kopalnih voda ne zajema lokacij, kjer ni uradno določenih kopalnih voda (npr. gramoznice, vodna zajetja).

Metode daljinskega zaznavanja za identifikacijo in oceno raznolikosti cianobakterij v fitoplanktonski skupnosti so lahko zelo dragocene informacije za raziskovalce, državne institucije, javne organizacije in zasebne obiskovalce, ki sodelujejo pri spremljanju cvetenja alg za varovanje javnega zdravja. Hiter razvoj analitičnih metod in raziskav je povzročil uvedbo metod daljinskega zaznavanja, ki so potrebne za ustvarjanje dodane vrednosti za tradicionalno tehnologijo, kar omogoča bistveno izboljšanje kakovosti raziskav.

Daljinsko zaznavanje cianobakterij je po vsem svetu doseglo velik napredek na področju satelitskega daljinskega zaznavanja za oceno koncentracije cianobakterij v obalnih vodah

morij in oceanov. Še posebej pomembno je, da metode satelitskega daljinskega zaznavanja omogočajo hkratno merjenje več vodnih teles, kot so oceani, morja in veliki vodni rezervoarji, vendar te metodologije ni mogoče preprosto prenesti v celinsko spremljanje. Zato so inovativne metode daljinskega zaznavanja iz zraka, kot je nadzor z brezpilotnim letalnikom, za spremljanje cvetenja cianobakterij in njihovo zgodnje napovedovanje, vsekakor natančnejše.

V zadnjih letih je spektralna analiza za oceno produktivnosti biomase in spremljanje stanja okolja postala bolj priljubljena z uporabo tehnologije *in situ* ali tehnologije daljinskega zaznavanja. Metodologija *in situ* vključuje analizo fluorescence fotosinteznih pigmentov, ki določajo koncentracije klorofila a, fikocianina in fikoeritrina, mikroskopijo in genetsko analizo za določitev sestave in strukture fitoplanktonske skupnosti s posebnim poudarkom na sodelovanju, kalibracijo fluorescence fotosinteznih pigmentov in biodiverzitete cianobakterij v vodah in pregled fluorimetričnega podpisa čistih sevov glavnih taksonov, ki se pojavljajo v preučevanih rezervoarjih, ki so izolirani iz teh jezer in drugih tipičnih jezer (cianobakterije, zelene alge, diatomeje, dinoflagelati). Rezultati teh analiz morajo razkriti delež vrst cianobakterij, razlikovati toksične in netoksične cianobakterijske rodove ter spremljati vrste cianobakterij s specifičnimi fiziološkimi strukturami, ki temeljijo na podlagi fluorescence ter odbojnosti (Kubiak in sod., 2016).

Tehnike daljinskega zaznavanja

Z daljinskim zaznavanjem zaznavamo obarvanost in motnost vode; onesnaževala vplivajo na barvo ali motnost, ki jo je mogoče zaznati. Motnost vode povzroča, da se svetloba absorbira v delce, zaradi česar je je manj za plankton. Problem je, da lahko povratni tok predstavlja mešanico vodnih barv (odsev dna), motnosti, ki jo povzroči plankton, in motnosti, ki jo povzroča suspendirana usedlina. V mnogih primerih je sprememba pretoka povzročena zaradi spremembe koncentracije ene sestavine (Harrington in sod., 1992).

Dejavniki, ki jih je treba oceniti pri odločanju o satelitskem nadzoru kakovosti vode, so izvedljivost, stroški in vrednost vsebine informacij. Motnost in obarvanost sta le dve od mnogih sestavin in značilnosti celinskih voda. S tega vidika se satelitsko daljinsko zaznavanje ne more primerjati z običajnimi postopki, pri čemer analiza enega vodnega vzorca poda rezultate za več stvari. Daljinsko zaznavanje ponuja precejšnje prednosti za preučevanje velikih površin, določanje trenutnih in tekočih vzorcev vode ter spremljanje sedimentacije in eutrofikacije.

Za analizo satelitskih podatkov MERIS, MODIS ali SeaWiFS so razvili številne algoritme, izvedene s strani Nacionalne uprave za oceane in atmosfero (Bracher in sod., 2014). Njihov glavni cilj so ocenitve klorofila, raztopljenega organskega ogljika in suspendiranih mineralov – treh primarnih agensov obarvanosti v vodnem okolju. Njihovi algoritmi za vsako vodno območje uporabljajo poseben hidro-optični model. Hidro-optični modeli zagotavljajo absorpcijske funkcije za vse tri komponente in povratni odgovor za klorofil in suspendirane delce, pridobljene z uporabo *in situ* optičnih podatkov z naključnimi meritvami koncentracije vode. Ti novi algoritmi zagotavljajo natančnejše ovrednotenje klorofila (Leshkevich in sod., 2012). Najboljša metodologija za izboljšanje teh algoritmov je uporaba ne le satelitskih posnetkov, temveč tudi slik, posnetih iz brezpilotnih letal in letal s posadko z multispektralno kamero. Multispektralno ali večspektralno snemanje je opazovanje pojavov z različnimi valovnimi dolžinami za pridobivanje informacij o njihovih spektralnih lastnostih ter njihovi distribuciji v prostoru (Oštir, 2006). Večspektralni senzori vzorčijo odbito in oddano svetlobo v različnih delih elektromagnetnega spektra in tako lahko razločijo posamezne spektralne pasove, ki jih lahko prestavimo z različnimi barvami oziroma odenki. S hiperspektralnim

senzorjem tako vzorčimo elektromagnetni spekter z velikim številom zelo ozkih, nekaj nanometrov širokih spektralnih pasov (Ciglič, 2018).

2.5.1 Primerjava metodologije satelitskega in zračnega daljinskega zaznavanja

Novost tehnologije daljinskega zaznavanja je zagotoviti natančnejšo, bolj prilagodljivo, cenejšo in hitrejšo metodo zaznavanja in napovedovanja posledic evtrofikacije. Inovativna metoda spremljanja cvetenja fitoplanktona s pomočjo satelitskega ali zračnega (s pomočjo brezpilotnih letal) daljinskega zaznavanja se odlikuje s stalnim spremljanjem in večnamenskostjo predlagane večsenzorske kamere, ki se široko uporablja ne le kot oprema za različna letalska vozila s posadko in brez posadke, temveč tudi v laboratoriju in zagotavlja boljše, pogostejše in natančnejše odkrivanje različnih pojavov v primerjavi z uporabo satelitskih posnetkov (Tellidis in Levin, 2014).

Uporaba tehnologije daljinskega zaznavanja iz zraka za spremljanje cvetenja cianobakterij ima prednosti, ki jih druge metode nimajo. Lahko hitro in pravočasno zagotovi celoten status porazdelitve fitoplanktona v celotnem jezeru ali na celotnem območju. Aerofotografije je mogoče dobiti veliko pogosteje kot satelitske prizore. Priprava letalskih misij za daljinsko vodene zrakoplove traja manj kot eno uro, za priprave zrakoplovov s posadko pa vsaj nekaj ur. Brezpilotna letala so primerna orodja tudi za raziskave fitoplanktonskih cvetenj, ker pridobivanja podatkov ne ovirajo vremenske razmere (npr. oblaki), kar je velika omejitev za analizo satelitskih posnetkov površinskega cvetenja. V svojih trenutnih razmerah satelitski senzorji, ki se uporabljajo za količinsko opredelitev prisotnosti klorofila ali biomase fitoplanktona, na splošno zagotavljajo bolj grobe informacije kot brezpilotna letala.

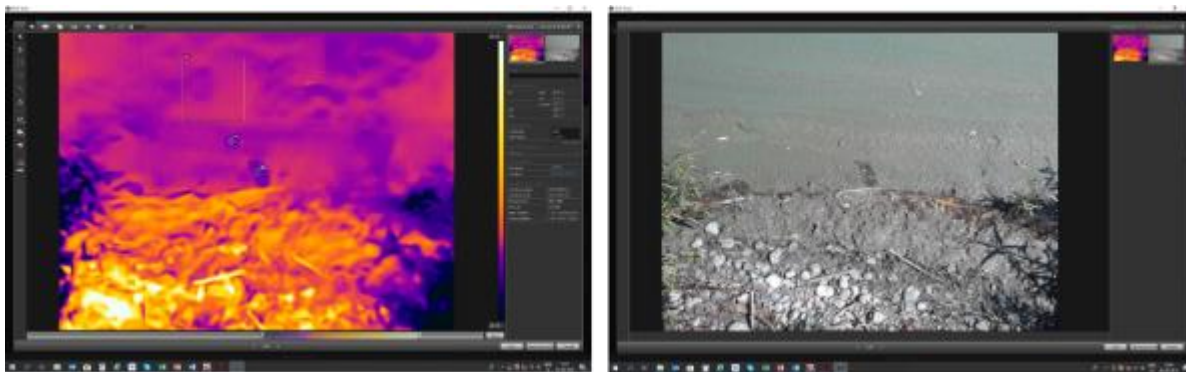
Brezpilotna letala zmanjšujejo potrebo po izvedbi študij v zraku z letali s posadko ter so cenovno zelo ugodna za raziskovalce. Nudijo tudi druge prednosti pri daljinskem zaznavanju kompleksnih in pogosto težko dostopnih območij. Brezpilotna letala so dostopna, ker so lahko učinkovitejša od pridobivanja posnetkov v zraku ali s sateliti v času in denarju in lahko zmanjšajo stroške vzorčenja kakovosti vode *in situ*. Raziskave o cvetenju alg na osnovi brezpilotnih letal lahko zmanjšajo količino terenskega dela, ki je potrebna za izvajanje meritev kakovosti vode in lahko zmanjša posledice prehoda skozi zaščitena, krhka področja ali področja, ki so nevarna. Spektralna identifikacija na osnovi brezpilotnih letal lahko poveča natančnost zaznavanja cvetenj, njihove površine in biomase zaradi bolj pogostega preletavanja izbrane lokacije ter zmožnosti, da zazna, kar s prostim očesom ne moremo, s pridobivanjem toplotnih slik in hiperspektralnih informacij.

Opazovanje naravnih sprememb zahteva pogosto opazovanje, ki ga lahko zagotovi tehnologija daljinskega zaznavanja iz zraka. Glede na vrsto zahtevane raziskave se lahko opazovanja izvedejo tudi večkrat na dan. Čas za ponovno pridobitev satelitskih prizorov iz istega območja lahko traja tudi več dni. Slike iz letal s posadko in brez posadke omogočajo boljše in natančnejše odkrivanje manjših objektov. Oddaljenost vzorčenja tal s senzorji, ki so nameščeni na letalu, je veliko bolj natančna kot odčitavanje iz satelitskih fotografij. Ločljivost zračnih posnetkov je lahko neprimerno višja, kar je odvisno od ravni letenja in vrste kamere.

Satelitski posnetki so vse pogostejši pri vseh vrstah aplikacij za spremljanje okolja, vendar so še vedno dragi in imajo precej težaven dostop do dela slik. Namestitev kamere na letalo lahko zagotovi takojšnje spremljanje. Plovilo s posadko ali brez posadke lahko vzleti in pridobi slike kmalu po odločitvi za letenje ali takoj po kritičnem dogodku, kot je npr. ob naravni nesreči. Kamere, ki so nameščene in se uporabljajo na krovu zrakoplovov s posadko in brez posadke, se lahko uporabijo tudi v laboratoriju, da se pridobijo informacije o preučeni predmetih z

ustvarjanjem spektralnih referenčnih krivulj, ki so tesno povezane s krivuljami, pridobljenimi med letom.

Prednost uporabe brezpilotnega plovila je tudi ta, da lahko brez večjih težav kombiniramo in izmenjujemo opremo, ki nam omogoča zaznavanje sončnega spektra, odbitega sevanja emisije fluorescence, emisijo toplote, pasivne in aktivne sisteme zaznavanja. Vsi ti sistemi poenostavijo delo pri ugotavljanju narave pojavov in njihovo interpretacijo. Slika 4 prikazuje primer uporabe infrardeče kamere pri analizi površinskega cveta cianobakterij.



Slika 4: Uporaba IR kamere za opazovanje površinskega cvetenja cianobakterij (foto: prof. dr. Sedmak B.).

Ponavljajoči se leti nad določenimi cvetenji lahko pomagajo raziskovalcem razumeti vzorce dinamike fitoplanktona ali identificirati potencialne vnose hranil v vodni sistem.

2.5.1.1 Ovire in izzivi

Vremenski in okoljski pogoji predstavljajo problem za brezpilotna letala, saj lahko dež, močni vetrovi in sončni sij (odboj svetlobe) pogosto povzročijo, da operaterji prekličejo svoje lete. Na primer, visoke hitrosti vetra lahko ogrozijo varno upravljanje letalnika ali prehitro izpraznijo baterijo, zato so leti priporočeni v šibkih vetrovnih obdobjih.

Čas letenja je tudi resna omejitev – večina manjših letalnikov ne more ostati v zraku več kot pol ure, preden je potrebna zamenjava baterije.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 Terensko delo

Delo se je izvajalo na lokacijah po Sloveniji, predvsem v severovzhodni Sloveniji. Delo, katero se je izvajalo v obdobju od septembra do sredine oktobra, se nanaša na opazovanje pojava površinskega cvetenja fitoplanktona ter njegovo obnašanje v naravi. Za kasnejšo razpravo rezultatov smo opažanja posneli s fotoaparatom ter s kamero brezpilotnega letala Phantom 4 pro. Pri delu smo uporabili naslednji material:

- pisalo, zvezek, fotoaparat,
- brezpilotno letalo: Phantom 4 pro (dovoljenje za upravljanje brezpilotnega letala je navedeno v poglavju 8),
- za vzorčenje vzorcev: 500 mL in 100 mL vzorčevalne posode, teleskopska palica,
- 37 % formaldehid (šifra: 104003.1000; lot: K47074003536),
- rokavice, brisače, posodo z vodo, etanol za spiranje, škaf.

Kvalitativni vzorci so bili odvzeti pozno poleti ter v začetku jeseni med cvetenjem cianobakterij. Za kvalitativno analizo smo zajeli 2 vzorca. En vzorec smo takoj po zajemu fiksirali s 37 % formaldehidom (1mL 37 % formaldehida/100 mL vzorca). Vzorec je bil nato shranjen v hladilniku pri temperaturi 4-10 °C. Analize so bile opravljene najkasneje 6 dni po zajemu. Drugega vzorca nismo fiksirali, temveč smo ga pregledali v najkrajšem možnem času po zajemu (še isti dan ob prihodu v laboratorij ali največ 2 dni po zajemu). Tak vzorec je namenjen predvsem natančnejši taksonomski determinaciji.

Z uporabo epifluorescenčnega mikroskopa smo analizirali sestavo in številčnost vrst fitoplanktona. Vrste so bile identificirane s pomočjo taksonomskih ključev za določevanje vrst, ki so navedene v poglavju 7.1.

3.2 Kvalitativna analiza fitoplanktona

S kvalitativno analizo fitoplanktona smo določili vrstno sestavo fitoplanktona. Taksonomsko določanje je potekalo do nivoja vrste s pomočjo sistema mikroskopa Eclipse TE300 (Nikon), digitalne kamere (DXM 1200, Nikon), fluorescentne osvetlitve (Super high pressure mercury lamp power supply, Nikon) in širokospektralnega modrega filtra B-2A, ter s pomočjo ustreznih taksonomskih ključev (glej poglavje 7.1). Na osnovi pregleda kvalitativnega vzorca smo oblikovali seznam vrst, ki smo ga nato uporabili pri pregledu kvantitativnega vzorca.

Kvalitativno smo opazovali oddajanje fluorescence posameznih vrst cianobakterij s spreminjanjem časa osvetlitve.

3.3 Kvantitativna analiza fitoplanktona

3.3.1 Številčna prisotnost posameznih vrst

Številčnost posameznih vrst fitoplanktona oziroma štetje smo izvedli skladno s standardom SIST EN 16695:2015 (Metodologija..., 2016). Za štetje smo uporabljali števno komoro Bürker-Türk hemocitometer globine 0,1 mm. Celice so bile najboljše vidne pod faznim kontrastom pri povečavi 200- ali 400-krat, odvisno od velikosti objekta. V vsakem vzorcu smo prešteli vsaj 100 do 200 celic cianobakterij. Prešteli smo vsaj po 8 vzorčnih enot (ena vzorčna enota so 4

kvadrati v diagonali ene števne mrežice) in upoštevali, da mora biti število prešteti celic čim večje, da je napaka tem manjša (Lawton in sod., 1999). Preštete vzorčne enote smo pomnožili z ustreznim faktorjem in izračunali število celic na liter vzorca.

V primeru redkih vzorcev smo vzorce koncentrirali s pomočjo sedimentacijskih valjev z različnimi volumni. Lund, Kipling in Le Cren (1958) priporočajo, da se za 100 mL valj počaka 18 ur, 3 ure za 10 mL in 1 uro za 1 mL. Uporabili smo 50 mL valje. V primeru gostega vzorca smo le-tega razredčili z destilirano vodo. Metodo koncentriranja s pomočjo sedimentacijskih valjev smo uporabili za koncentriranje oziroma usedanje različnih drugih planktonskih organizmov iz cianobakterijskega cveta. Po usedanju vzorca, smo celice prešteli po zgoraj navedeni metodi.

3.3.2 Izračunavanje volumna posameznih planktonov (biovolumen)

Na digitalnih fotografijah, ki smo jih posneli z digitalno kamero (DX 1200, Nikon), priključeno na invertni mikroskop s fluorescenco (Eclipse TE300, Nikon), smo s pomočjo programske opreme NIS Elements Documentation (Microscope Imaging Software NIS Elements D 3.2) izmerili parametre a-dolžina posamezne celice, b-širina posamezne celice in r-premer vsaj dvajsetih naključno izbranih celic ter po formulah iz preglednice 2 (Olenina in sod., 2006) izračunali volumen celic.

Preglednica 2: Formule, uporabljene za izračun volumna celic.

Fitoplankton	Formula za izračun volumna celice
<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Microcystis wasenbergii</i> , <i>Microcystis viridis</i> , <i>Sphaerocystis sp.</i>	$V = \frac{1}{6} \pi a^3$
<i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Woronichinia naegeliana</i> ,	$V = \frac{1}{6} \pi a b^2$
<i>Stephanodiscus hantzschii</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Phormidium sp.</i>	$V = \frac{1}{4} \pi a b^2$
<i>Ceratium sp.</i> , <i>Pediastrum sp.</i>	$V = \frac{1}{12} \pi b^2 a$

Biovolumen posamezne vrste (skupni biovolumen) smo izračunali iz pogostosti posamezne vrste in povprečnega celičnega biovolumna vrste po standardu SIST EN 16695:2015 (Metodologija..., 2016).

4 REZULTATI

4.1 Opis območja preiskav ter opažanja površinskega cvetenja

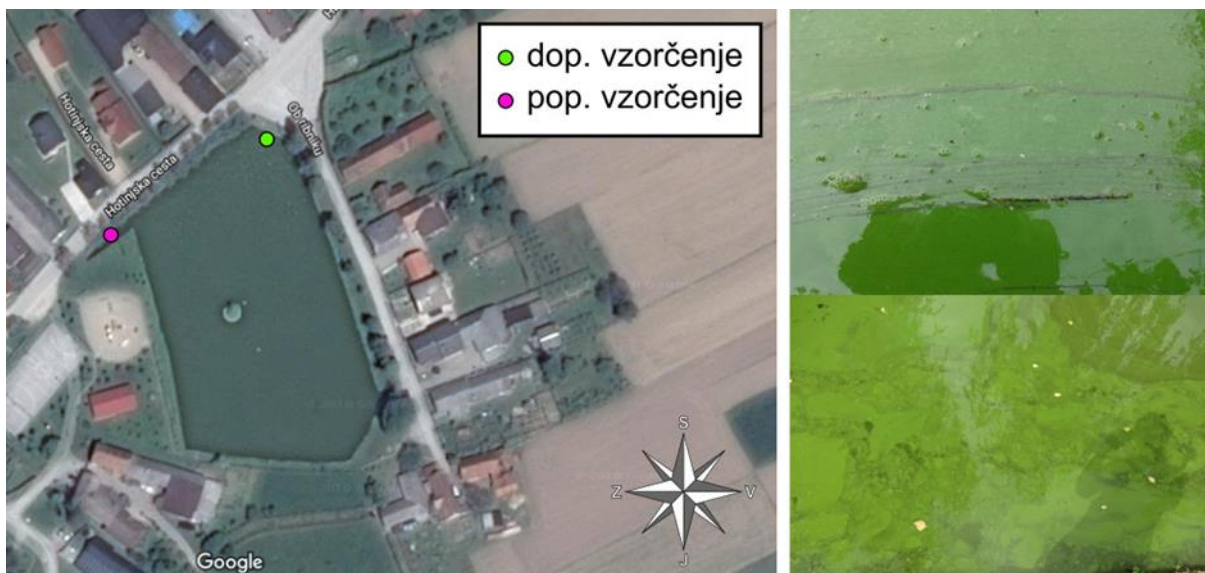
Spremljanje fitoplanktona je v skladu z okvirno direktivo o vodah eden ključnih elementov ocene kakovosti vode in določanja ekološkega stanja jezer. Direktiva o vodah in Pravilnik o monitoringu površinskih voda, ki na njej temelji, ne narekujeta spremljanja fitoplanktona v vseh vodnih telesih. Izključena so številčna in biotsko raznovrstna majhna jezera, ribniki in vodna telesa mestnih zajetij, ki so velika le nekaj hektarjev. Neizvajanje nadzora ne pomeni, da ta vodna telesa niso potencialno problematična. Ena največjih skrbi, povezanih z njimi, je prav pojav cianobakterijskih cvetov. Ker naši preiskovani ribniki niso vključeni v državni monitoring, ni podatkov o njihovem ekološkem stanju.

4.1.1 Ribnik v Hotinji vasi

Ribnik v Hotinji vasi je majhno, plitvo vodno telo, ki je na robu vasi v okolici Maribora (Slika 5). V ribnik se je včasih (po besedah okoliških prebivalcev) iztekala neurejena okoliška kanalizacija. V ribniku že več let zapored prihaja do rednih ter obsežnih cvetenj cianobakterij, kar predstavlja vir toksinov, ki jim je izpostavljeno okoliško prebivalstvo. V neposredni bližini Hotinjskega ribnika so tudi osnovna šola ter otroška igrala.

Ribnik je nastal kot vodni zbiralnik, ki je omogočal stalno oskrbo z vodo za napajanje živine in kot zbiralnik vode v primeru požarne nevarnosti. Danes ribnik okoliški prebivalci uporabljajo predvsem za ribarjenje krapovcev. Upravljaivec ribnika je ribiško društvo Maribor.

Površina ribnika znaša približno 1 ha in ribnik ni globlji od enega metra. Vzorce površinskega cvetenja smo odvzeli na dveh lokacijah, kot je prikazano na sliki Slika 5, in sicer v dopoldanskem času in popoldanskem času.



Slika 5: Levo je prikaz lege ribnika v Hotinji vasi, na sliki so označena tudi vzorčna mesta (koordinata lokacije: 46.467684, 15.6766342, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz površinskega cvetenja *Microcystis aeruginosa*, zgoraj v dopoldanskem času in spodaj v popoldanskem času (foto: Drolc T.).

Kot lahko opazimo na sliki (Slika 6), se površinsko cvetenje v dopoldanskem času razprostira čez celotno območje ribnika. Ob glavni cesti je videti, da je površinsko cvetenje tam bolj skoncentrirano kot drugod po ribniku. Okoli ribnika je bilo opaziti več iztokov iz hiš neposredno v ribnik. V popoldanskem času je bilo površinsko cvetenje opazno samo še pri iztoku ribnika.

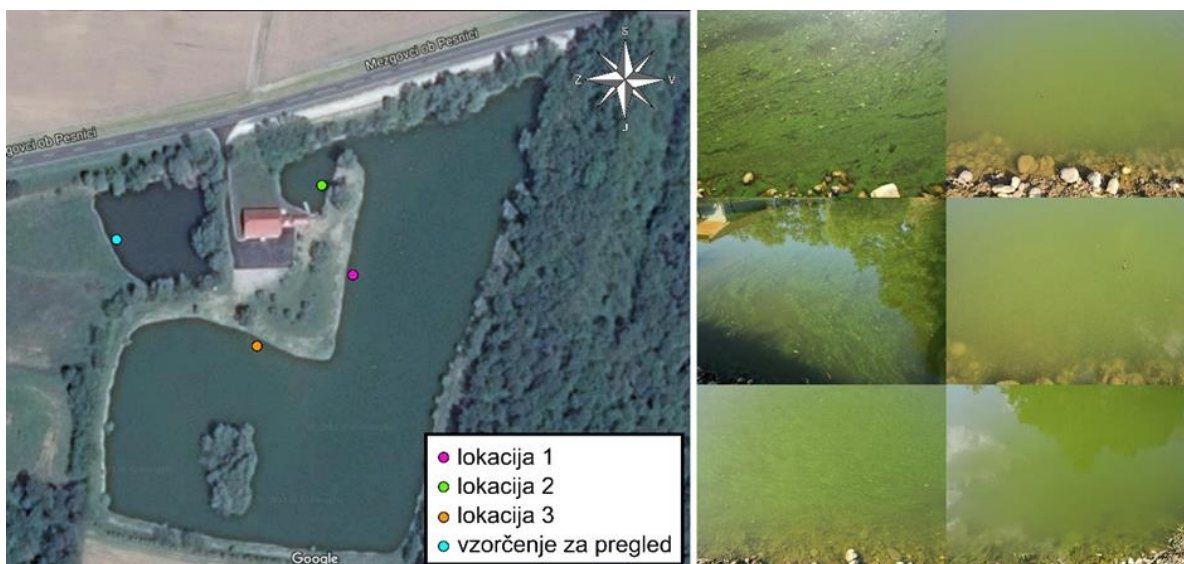


Slika 6: Posnetek površinskega cvetenja v dopoldanskem času na ribniku v Hotinji vasi, posnet z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.).

4.1.2 Ribnik v Prvencih

Ribnik v Prvencih (Slika 7) spada v občino Markovci in z njim upravlja športno ribiško društvo Markovci. Ribnik je v neposredni bližini glavne ceste. Preden je postal ribnik, je bila to gramoznica, ki je imela vlogo odlagališča. Športno ribiško društvo je s pomočjo občine uspelo preurediti gramoznico v ribnik. Tako je sedaj ribnik namenjen športnemu lovljenju rib iz družine krapovcev.

Površina ribnika znaša 2 ha; globina ribnika je približno 3 m. Vzorce površinskega cvetenja smo odvzeli na treh lokacijah, kot je prikazano na sliki Slika 7, in sicer v dopoldanskem času in popoldanskem času. Odvzeli in pregledali smo tudi vzorce iz manjšega vodnega telesa ob ribniku, kar je označeno z modro piko na sliki Slika 7.



Slika 7: Levo je prikaz lege ribnika v Prvencih, na sliki so označena mesta vzorčenja, ki so bila vzorčena na različnih lokacijah zaradi različnega pojavljanja površinskega cvetenja (koordinata lokacije: 46.417053, 15.959699, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz površinskega cvetenja *Microcystis aeruginosa* na različnih lokacijah, v prvem stolpcu so slike površinskega cvetenja posnete v dopoldanskem času, v drugem stolpcu so slike, posnete v popoldanskem času (foto: Drolc T.).

Pri opazovanju površinskega cvetenja smo opazili, da je to gostejše ob ribiškem domu ter ob cesti (Slika 8).



Slika 8: Površinsko cvetenje na ribniku v Prvencih, posnetek posnet z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.).

4.1.3 Ribnik v Podgradu pri Gornji Radgoni

Ribnik v Podgradu (Slika 9) je na desni strani ob cesti, 300 m iz Podgrada proti Apačam pri Gornji Radgoni. Poleg ribnika je tudi ribiški dom, ki je v lasti Ribiške družine Gornja Radgona. Ribnik meri približno 0,66 ha. Po pogovoru s člani ribiške družine smo izvedeli, da se proti

površinskemu cvetenju borijo z uporabo kemičnih sredstev, ki jih zlivajo v ribnik. Vzorčenje smo tako opravili ob različnih dnevih, in sicer pred in po dodatku kemikalij v ribnik. Na sliki Slika 9 (desno spodaj) lahko vidimo, da površinskega cvetenja ni več v takšni meri, kot je bilo pred dodatkom kemikalij, vendar je bila takšna rešitev samo kratkotrajna, saj se vidi ponovna tvorba površinskega cvetenja.



Slika 9: Levo je prikaz lege ribnika v Podgradu, na sliki so označena vzorčna mesta z datumom vzorčenja (koordinata lokacije: 46.682598, 15.967371, vir: Google zemljevid). Desno je prikazano površinsko cvetenje *Microcystis aeruginosa* na ribniku, in sicer je zgoraj prikazano cvetenje pred dodatkom kemikalij (vzorčenje 05. 09. 2018) in spodaj je prikazano površinsko cvetenje po dodatku kemikalij (vzorčenje 20. 09. 2018) (foto: Drolc T., prof. dr. Sedmak B).

4.1.4 Ribnik Savci

Ribnik Savci (Slika 10) leži na poti med Ljutomerom in Ptujem. Kraj Savci spada v občino Ormož; tako tudi z ribnikom gospodari matična ribiška družina Ormož. Akumulacijo v Savcih je Ribiška družina Ormož sprejela v upravljanje od Občine Ormož na podlagi Sporazuma o dodelitvi Ormoškega ribiškega okoliša. Na zemljišču, ki ga je Ribiška družina Ormož odkupila, so ribiči postavili ribiški dom; del doma so namenili gostinski dejavnosti.

Ribnik Savci meri 15 ha, od tega je 7,5 ha varstvene vode ter leži na nadmorski višini 220 m. Največja globina ribnika je približno 3 m, kar ga uvršča med ribnike, čeprav površina ustreza jezeru (info: Turistična informativna pisarna Sveti Tomaž).



Slika 10: Levo je prikazana lega ribnika Savci, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinata lokacije: 46.467088, 16.037187, vir: Google zemljevid). Desno je prikazano površinsko cvetenje *Microcystis flos-aquae* in *Woronichinia naegeliana* v nastajanju (foto: prof. dr. Sedmak B.).

V ribniku Savci smo površinsko cvetenje vzorčili, kot je možno opaziti na sliki Slika 10, pri iztoku ribnika. Zaradi nedostopnosti do vodnega telesa smo si glede vzorčenja pomagali s teleskopsko palico. Površinsko cvetenje je bilo v primerjavi z drugimi vodnimi telesi tanka koprena; prosojnost vode je bila slaba. Zato smo ocenili, da je bilo površinsko cvetenje v nastajanju.

4.1.5 Ribnik v Boreci

Gramoznica Boreci (Slika 11) leži v neposredni bližini glavne ceste v naselju Boreci. Za območje skrbi Ribiška družina Ljutomer. To je eden najmanjših ribiških revirjev površine 1,8 ha. Za ribiče je to ena izmed priljubljenih destinacij za lovljenje cipridnih vrst rib.



Slika 11: Levo je prikazana lega ribnika v Boreci, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinata lokacije: 46.563817, 16.146457, vir: Google zemljevid). Desno je fotografija površinskega cvetenja *Microcystis aeruginosa* in *Microcystis wasenbergi* (foto: Drolc T.).

4.1.6 Ledavsko jezero

Ledavsko jezero (Slika 12) je umetno akumulacijsko jezero, ki se razprostira med vasema Pertoča in Krašči. Jezero domačini imenujejo tudi Kraško jezero in spada med pomembne naravne znamenitosti v Krajinskem parku Goričko. Ledavsko jezero je nastalo z zaježitvijo reke Ledave v sedemdesetih letih prejšnjega stoletja. Osnovni namen gradnje je bil varovanje

nižje ležečih naselij pred poplavami, ki so vrsto let povzročale veliko škode. Vzoredni namen gradnje, ki se je izvedla le v manjšem obsegu, je bilo izkoriščanje vodnega zadrževalnika za namakanje kmetijskih površin v sušnih obdobjih ter razvoj ribištva in turizma.

Gladina vode se zmanjšuje, saj reka Ledava prinaša ogromno mulja iz okoliških njiv, ki se nalaga na dno. Zato se je površina vodne gladine že zmanjšala od prvotne. Pokriva nekaj čez 70 ha; jezerska pregrada je visoka 10 m. Jezero leži na nadmorski višini 234 m; delita si ga občini Cankova in Rogašovci.

V poročilu o stanju jezer Ledavsko jezero ne dosega dobrega ekološkega stanja. Zaradi visoke vsebnosti in prisotnosti fitoplanktonskih vrst ima slabo ekološko stanje. Rekreativna dejavnost je tam omejena na ribolov ciprinidnih vrst, s katerim upravlja ribiška družina Murska Sobota, in sprehodi okoli jezera.



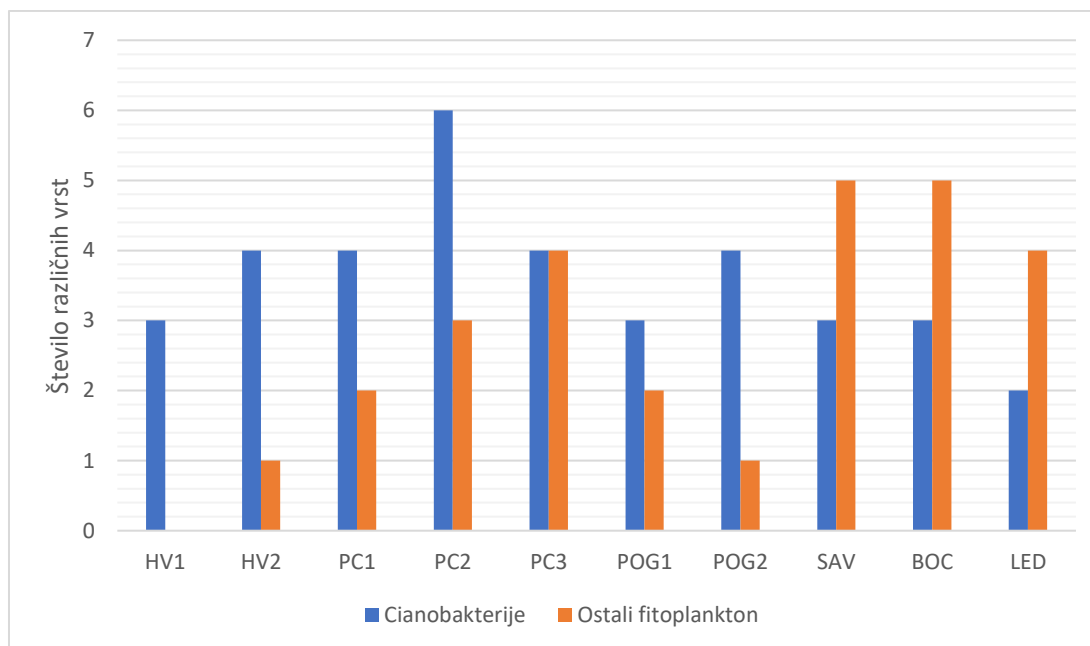
Slika 12: Levo je prikazana lega Ledavskega jezera, na sliki je označeno tudi vzorčno mesto (koordinata lokacije: 46.750754, 16.041058, vir: Google zemljevid). Desno je prikaz oblikovanja površinskega cvetenja *Aphanizomenon flos-aquae*, na vzorčnem mestu (foto: Drolc T.).

Vzorčenje smo izvedli na enem mestu, in sicer v bližini pregrade, kot je prikazano na sliki Slika 12. Površinsko cvetenje je bilo v nastajanju.

4.2 Predstavitev cvetenj

4.2.1 Vrsta sestava cvetenja

S pomočjo mikroskopa Eclipse TE300 (Nikon) in taksonomskih ključev smo do vrste določili sestavo površinskega cvetenja tako svežih vzorcev kot tudi vzorcev, fiksiranih v formalinu. Za določitev ostalega fitoplanktona v površinskem cvetu smo vzorec zgoščili v usedalniku (Hydrobios). Zgoščevali smo fiksirani vzorec, kar povzroči posedanje fitoplanktona iz površinskega cvetenja. Taksonomsko smo določili fitoplankton do nivoja rodu s pomočjo svetlobnega mikroskopa (Nikon) pod 100-kratno povečavo.



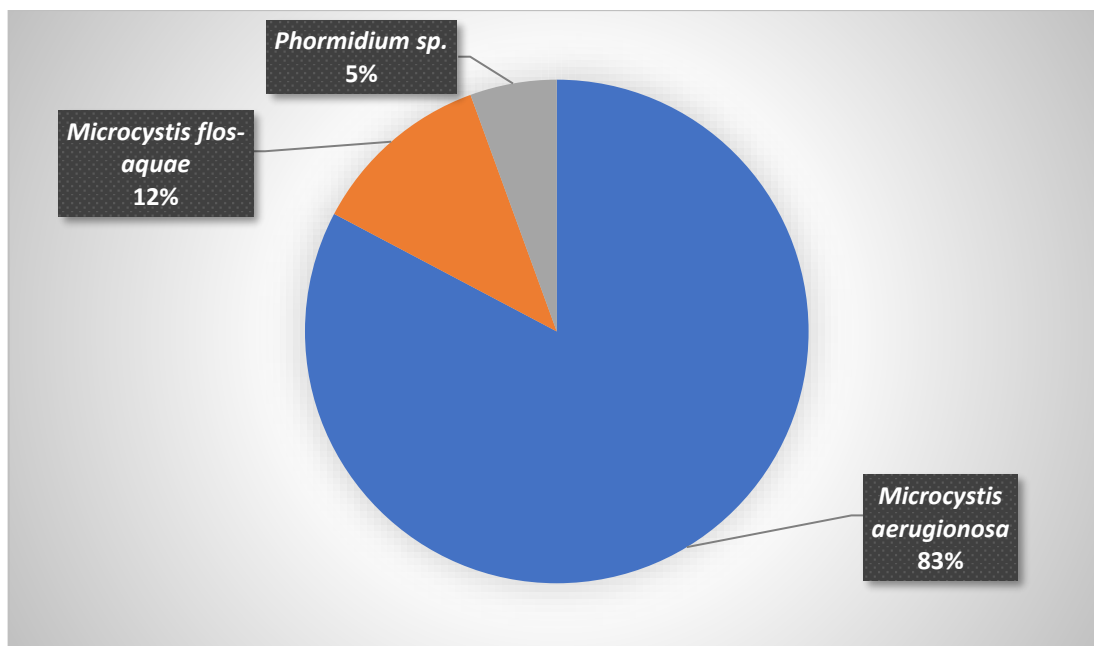
HV1, Hotinja vas dopoldan; HV2, Hotinja vas popoldan; PC1, Prvenci, vzorčeno 05. 09. 2018; PC2, Prvenci vzorčeno 20. 09. 2018 dopoldan; PC3, Prvenci vzorčeno 20. 09. 2018 popoldan; POG1, Podgrad vzorčeno 05. 09. 2018; POG2, Podgrad vzorčeno 20. 09. 2018; SAV, Savci; BOC, Boreci; LED, Ledavsko jezero

Slika 13: Sestava površinskega cvetenja na različnih lokacijah. Modra barva predstavlja število vrst cianobakterij na površju. Oranžna barva predstavlja število vrst ostalih fitoplanktonov v površinskem cvetu.

Na sliki Slika 13 je razvidno, da v vodnem telesu na večini lokacij prevladuje število vrst cianobakterij nad številom ostalih fitoplanktonov, razen v primeru vzorcev iz Savci, Boreci in Ledavsko jezero, kjer nad cianobakterijam po številu različnih vrst prevladujejo drugi fitoplanktoni.

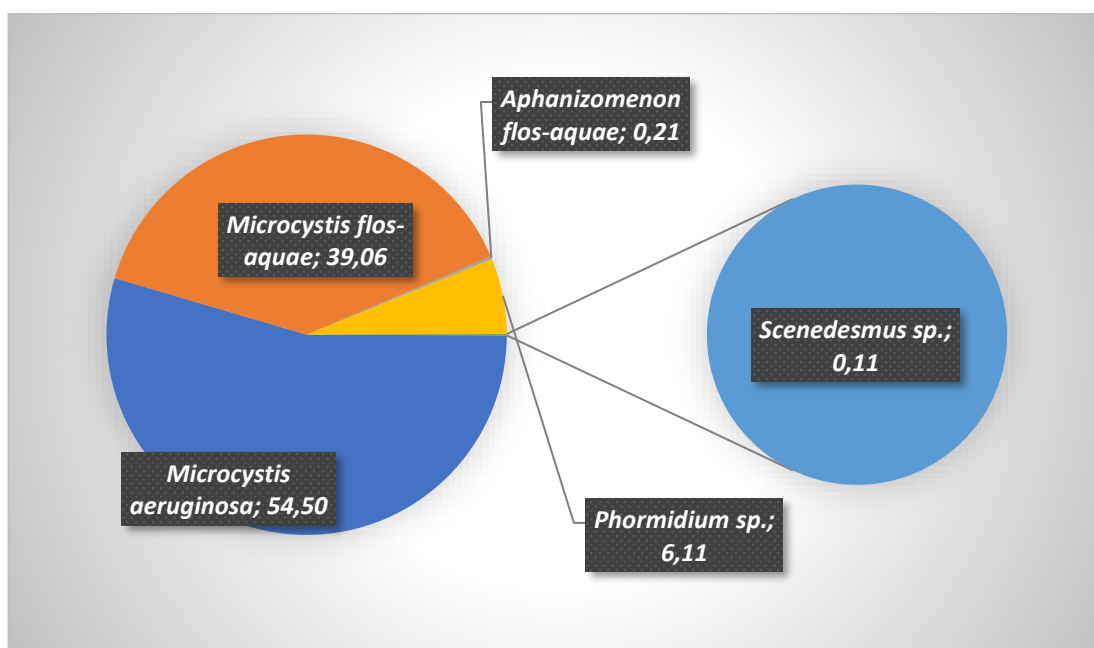
V nadaljevanju slike Slika 15, Slika 16, Slika 17, Slika 19, Slika 20, Slika 21, Slika 22, Slika 25 ter Slika 26 prikazujejo vrstno sestavo površinskega cvetenja. V diagramih so predstavljeni rezultati populacije fitoplanktona v površinskem cvetu v odstotkih glede na število celic na liter.

V vzorcu površinskega cvetenja iz Hotinje vasi, vzorčeno v dopoldanskem času, ni bilo zaslediti drugih fitoplanktonov; cianobakterije so tam popolnoma prevladale nad ostalim fitoplanktonom. V vzorcu je prevladovala *Microcystis aeruginosa* 82,7 %; opazili smo tudi *Microcystis flos-aquae* 11,7 % ter *Phormidium sp.* 5,6 % (Slika 14).



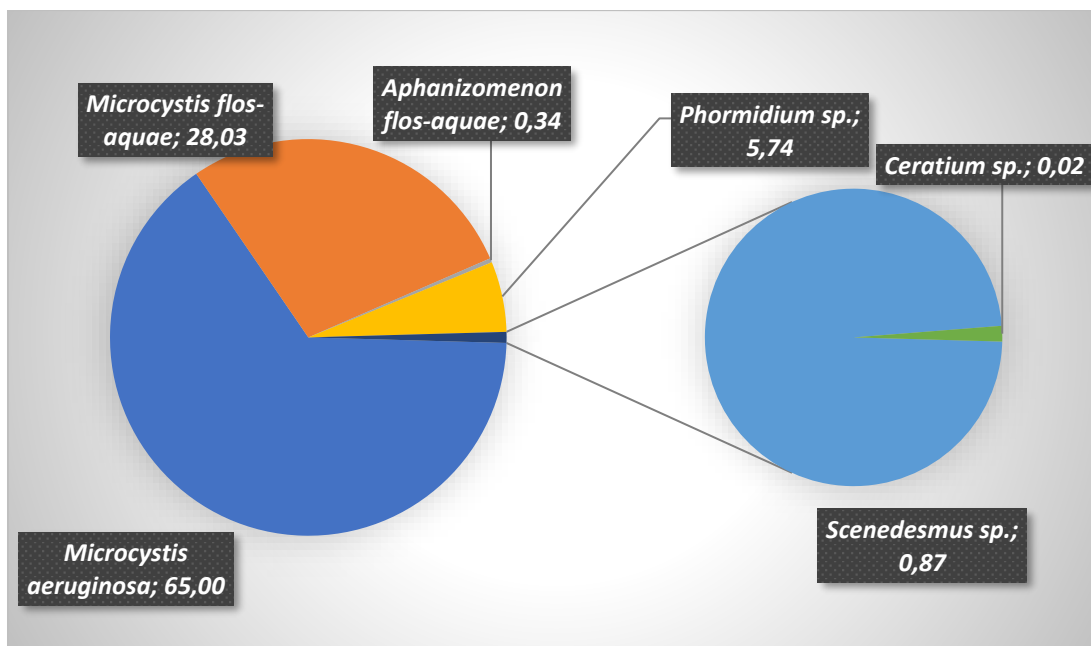
Slika 14: Vrsta sestava površinskega cvetenja v vzorcu Hotinja vas v dopoldanskem času.

Površinsko cvetenje v vzorcu iz Hotinje vasi, vzorčeno v popoldanskem času, sestavljajo naslednje vrste (Slika 15): *Microcystis aeruginosa* 54,50 %, *Microcystis flos-aquae* 39,06 %, *Aphanizomenon flos-aquae* 0,21 % ter *Phormidium sp.* 6,11 %. Od ostalih fitoplanktonov je bila v vzorcu prisotna le zelena alga rodu *Scenedesmus sp.*, 0,11 % celic na liter.



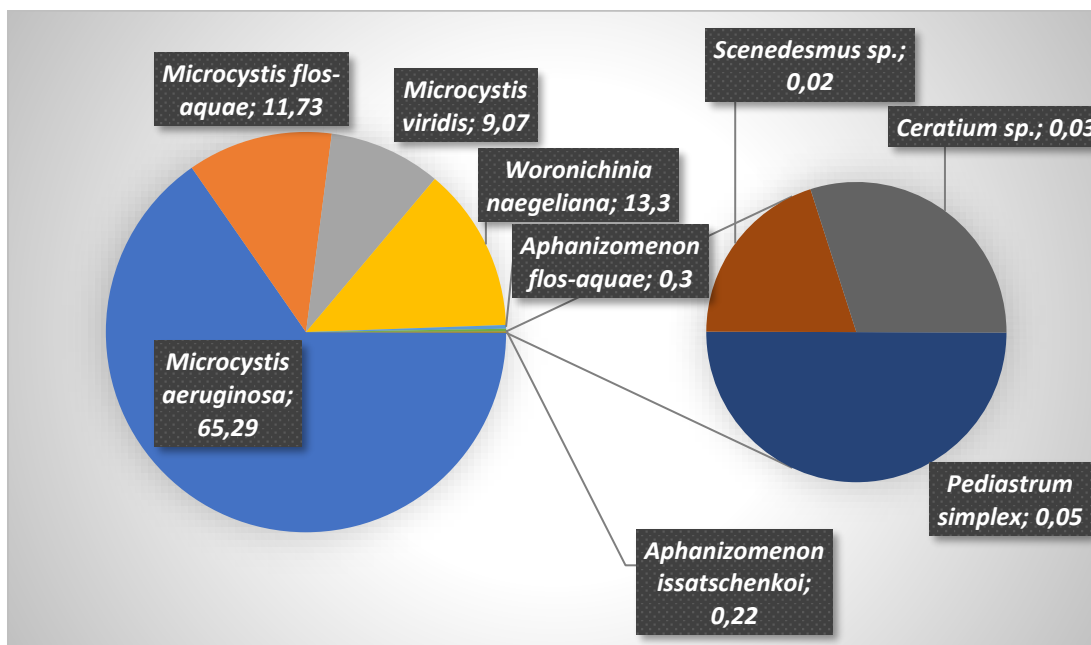
Slika 15: Vrsta sestava površinskega cvetenja v vzorcu Hotinja vas v popoldanskem času.

Na sliki Slika 16 je prikazana vrsta sestava površinskega cvetenja v vzorcu iz Prvencev, vzorčeno 05. 09. 2018, v opoldanskem času. Prevladuje *Microcystis aeruginosa* 65 %. V vzorcu je bilo prav tako zaslediti tudi *Microcystis flos-aquae* 28 %, *Phormidium sp.* 6 %. Odstotek drugih fitoplanktonskih organizmov je bil zanemarljiv (<1 %).



Slika 16: Vrsta sestava površinskega cvetenja v vzorcu Prvenci, vzorčeno 05. 09. 2018 v opoldanskem času.

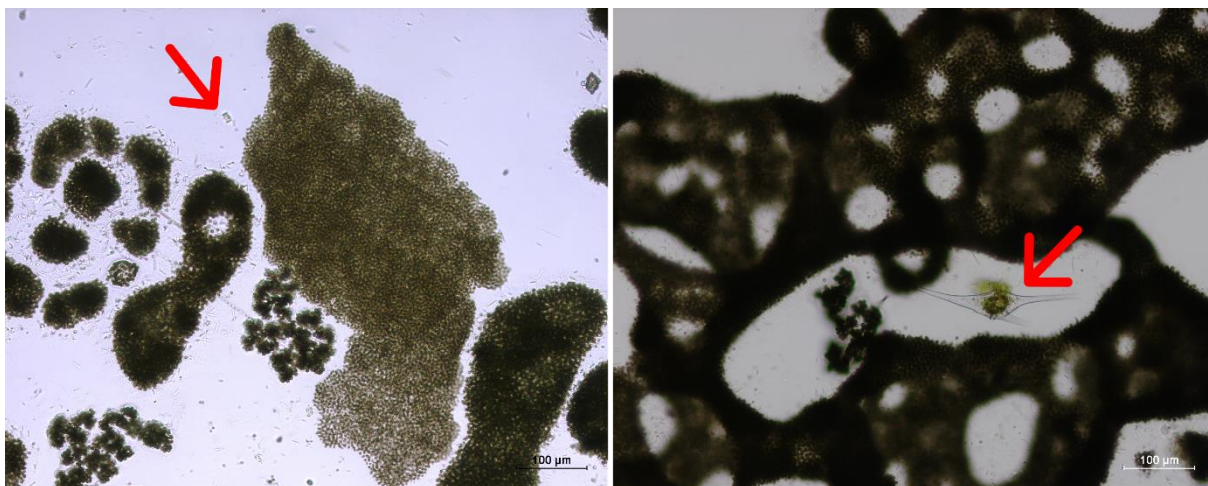
Na sliki Slika 17 je prikazana vrsta sestava površinskega cvetenja v vzorcu iz Prvencev, vzorčeno 20. 09. 2018 v dopoldanskem času. Prevladuje *Microcystis aeruginosa* 65 %. V vzorcu so se pojavile tudi *Microcystis flos-aquae* 11,73 %, *Microcystis viridis* 9,07 %, *Woronichinia naegeliana* 13,3 % ter *Aphanizomenon flos-aquae* 0,3 %. Odstotek drugih fitoplanktonskih organizmov je bil zanemarljiv (0,1 %).



Slika 17: Vrsta sestava površinskega cvetenja vzorca, vzorčeno 20. 09. 2018 v dopoldanskem času.

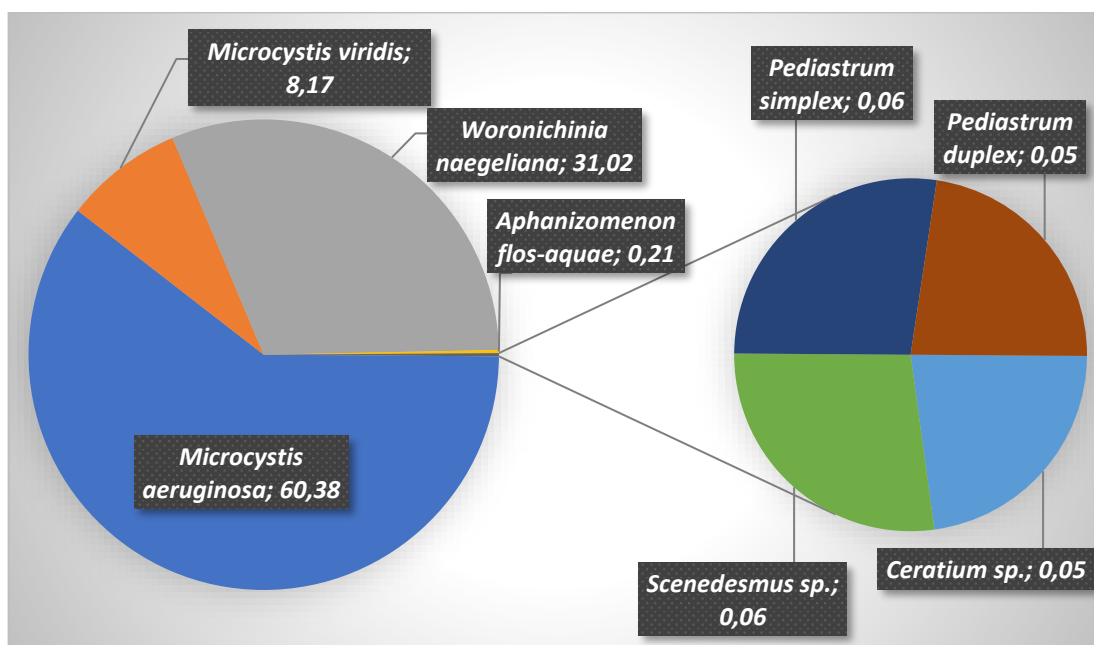
Po mikroskopskem pregledu živega vzorca iz Prvencev (vzorčeno 05. 09. 2018 v dopoldanskem času) smo v površinskem cvetu našli zeleni algi *Scenedesmus sp.* in *Ceratium sp.* pri 100-kratni povečavi (Slika 18). Desno vidimo veliko perforirano kolonijo *Microcystis aeruginosa*, podkolonijo *Microcystis viridis* ter dinoflagelat *Ceratium sp.* Na levi sliki vidimo

mlade kolonije *Microcystis aeruginosa* in *Microcystis viridis*. Ob zeleni algi, ki je označena s puščico, *Scenedesmus* sp., opazimo veliko kolonijo (verjetno skupek več kolonij) *Microcystis flos-aquae*.



Slika 18: Boj za svetlobo in preživetje. Zelene alge v površinskem cvetenju živega vzorca iz Prvenci, vzorčeno 20. 09. 2018 v dopoldanskem času. Levo je s puščico označen *Scenedesmus* sp. in desno je s puščico označen *Ceratium* sp. Fotografija je bila posneta pod mikroskopom pri 100-kratni povečavi.

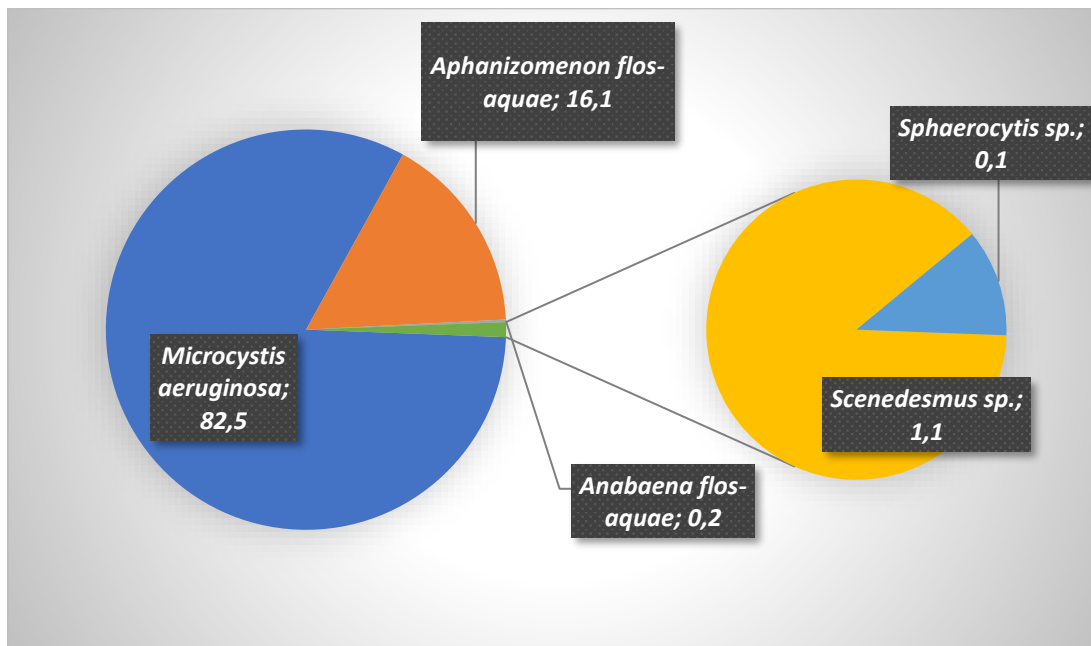
Na sliki Slika 19 je prikazana vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu iz Prvencev, vzorčeno 20. 09. 2018 v popoldanskem času. Prevladuje *Microcystis aeruginosa* 60 %. V vzorcu je bilo zaslediti tudi *Woronichinia naegeliana* 31,02 %, *Microcystis viridis* 8,17 % ter *Aphanizomenon flos-aquae* 0,21 %. Odstotek drugih fitoplanktonskih organizmov je bil zanemarljiv (0,22 %).



Slika 19: Vrstna sestava površinskega cvetenja v vzorcu Prvenci, vzorčeno 20. 09. 2018 v popoldanskem času.

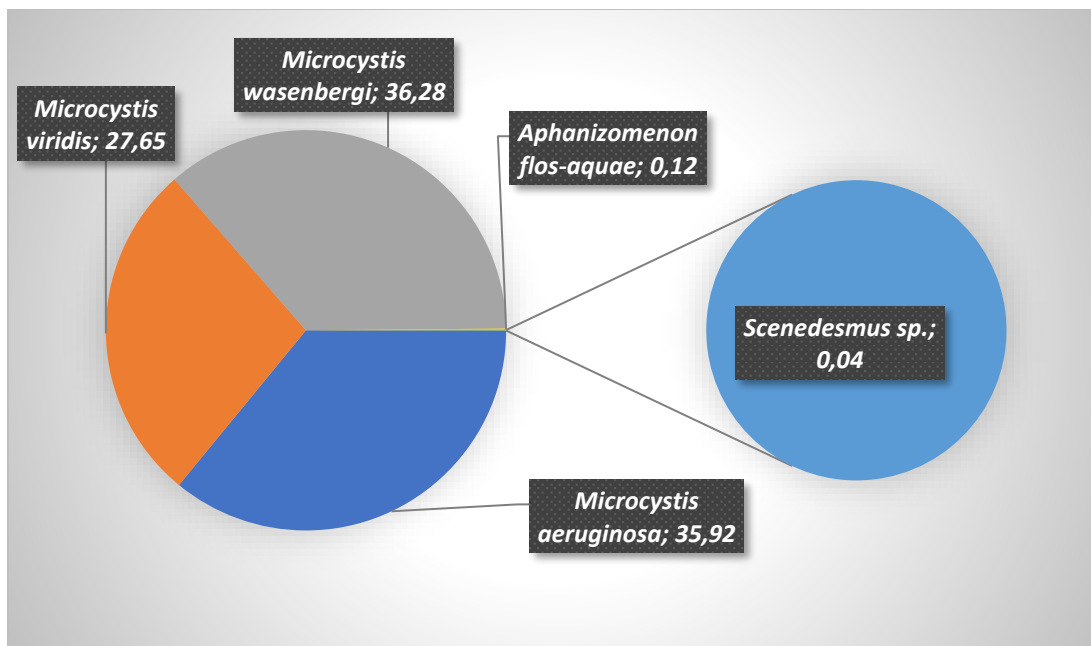
Na sliki Slika 20 je prikazana vrstna sestava v vzorcu iz Podgrada, vzorčeno 05. 09. 2018. Prevladuje *Microcystis aeruginosa* 82 %. V vzorcu je bilo zaslediti tudi *Aphanizomenon flos-*

aquae 16,1 % ter *Anabaena flos aquae* 0,2 %. Odstotek drugih fitoplanktonskih organizmov je bil zanemarljiv (1,2 %).



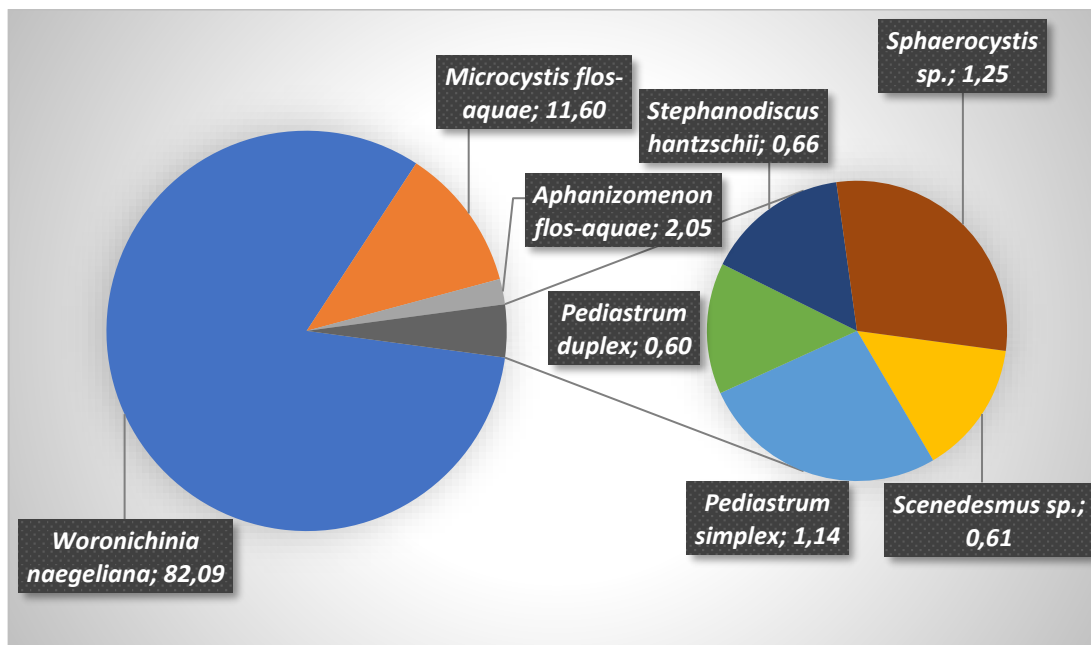
Slika 20: Vrsta sestava površinskega cvetenja vzorca iz Podgrada, vzorčeno 05. 09. 2018.

Na sliki Slika 21 je prikazana vrsta sestava površinskega cvetenja vzorca iz Podgrada, vzorčeno 20. 09. 2018. Površinski cvet sestavljajo *Microcystis wasenbergi* 36,28 %, *Microcystis aeruginosa* 35,92 % ter *Microcystis viridis* 27,65 %. V vzorcu je bilo zaslediti tudi *Aphanizomenon flos-aquae* 0,12 %. Od drugih fitoplanktonov je bila v vzorcu površinskega cvetenja prisotna le zelena alga *Scenedesmus sp.* 0,04 %.



Slika 21: Vrsta sestava površinskega cvetenja vzorca iz Podgrada, vzorčeno 20. 09. 2018.

Na sliki Slika 22 je prikazana vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz ribnika Savci. Prevladuje *Woronichinia naegeliana* 82 %. V cvetu sta bili prisotni tudi *Microcystis flos aquae* 11,6 % ter *Aphanizomenon flos-aquae* 2,05 %. Opazimo veliko pestrost ostalih fitoplanktonov, in sicer zelene alge *Pediastrum duplex*, *Sphaerocystis* sp., *Pediastrum simplex* ter *Scenedesmus* sp. Prav tako smo v vzorcu zasledili tudi diatomejo *Stephanodiscus hantzschii*.



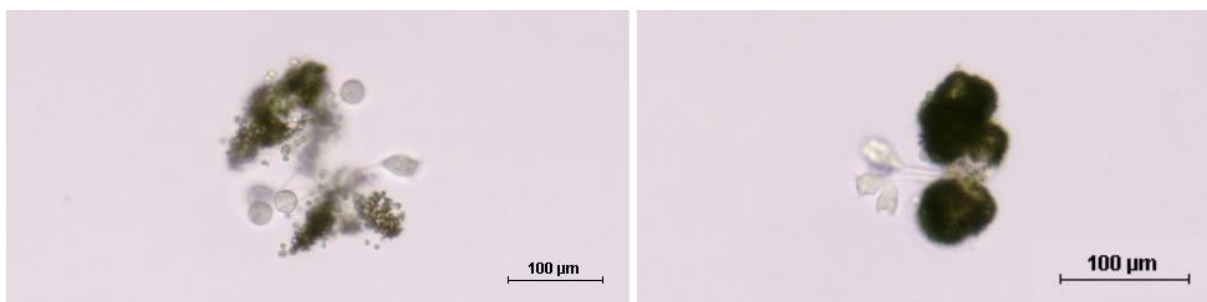
Slika 22: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz ribnika Savci.

V vzorcu smo našli tudi zanemarljiv delež diatomeje *Aulacoseira ambigua* f. *japonica* (Slika 23).



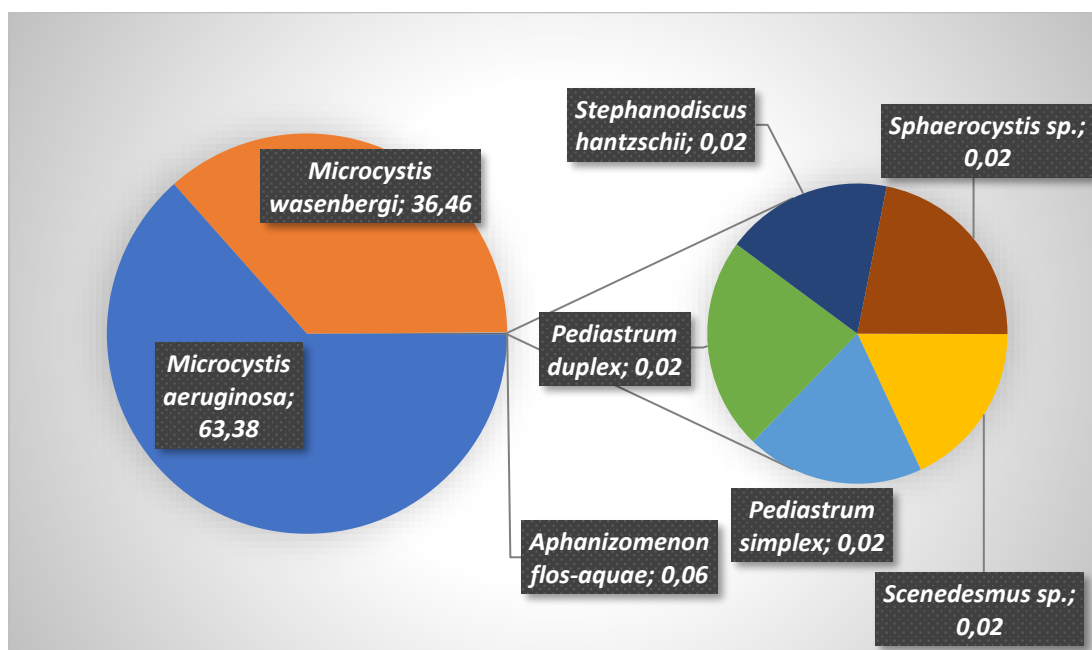
Slika 23: *Aulacoseira ambigua* f. *japonica*, 200-kratna povečava (foto: Drolc T.)

Po pregledu živega vzorca iz ribnika Savci smo opazili tudi predstavnike zooplanktona. Na fotografiji (Slika 24), posneti s svetlobnim mikroskopom pri 100-kratni povečavi, je bilo opaziti zooplanktonskega predstavnika *Tintinnid* sp., pritrjenega na kolonije cianobakterij.



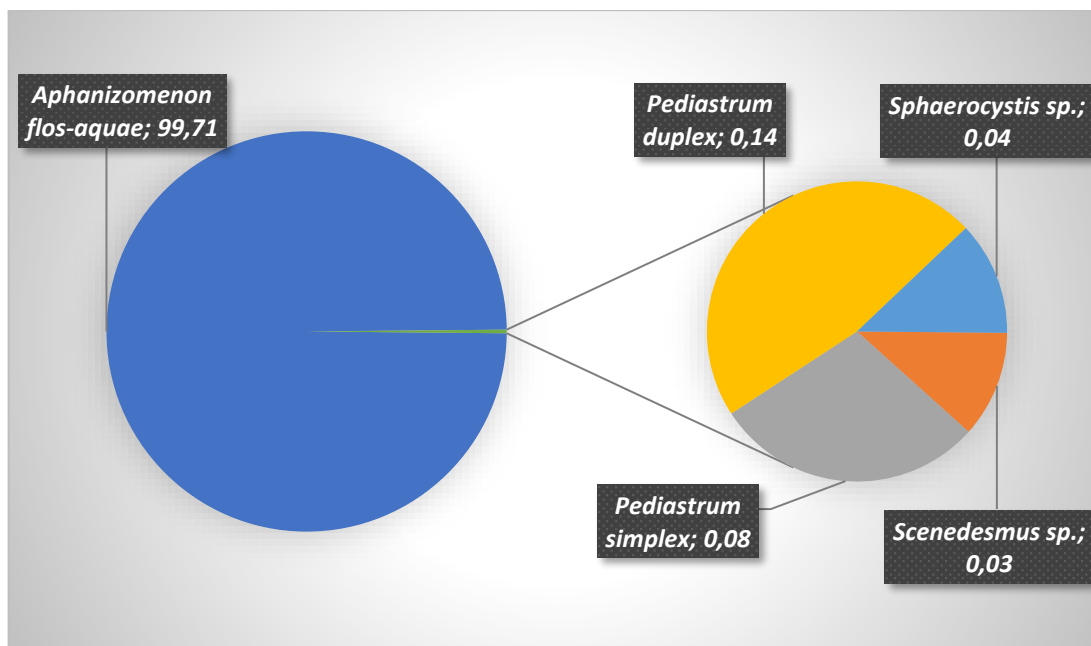
Slika 24: Leva in desna slika prikazujeta zooplankton *Tintinnid* sp. Zaradi različne pozicije zooplanktona ga opazimo v drugačnih oblikah. Levo je prikaz zooplanktona s sprednje strani, desno je prikaz zooplanktona s strani (foto: Drolc T.).

Na sliki Slika 25 je prikazana vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz ribnika v Boreci. Prevladuje *Microcystis aeruginosa* 63 %, prisotni sta tudi *Microcystis wasenbergi* 36,46 % ter *Aphanizomenon flos-aquae* 0,06 %. Tudi tukaj vidimo veliko pestrost drugih planktonskih organizmov, in sicer zelene alge *Pediastrum duplex*, *Sphaerocystis* sp., *Pediastrum simplex* ter *Scenedesmus* sp. Prav tako smo v vzorcu zasledili tudi diatomejo *Stephanodiscus hantzschii*.



Slika 25: Vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca Boreci

Na sliki Slika 26 je prikazana vrstna sestava površinskega cvetenja vzorca iz Ledavskega jezera. Prevladuje *Aphanizomenon flos-aquae* 99 %. Tako kot v prejšnjih dveh vzorcih tudi tukaj vidimo veliko pestrost drugih planktonskih organizmov, in sicer zelene alge *Pediastrum duplex*, *Sphaerocystis* sp., *Pediastrum simplex* ter *Scenedesmus* sp.



Slika 26: Vrsta sestava površinskega cvetenja vzorca iz Ledavskega jezera.

Po pregledu vzorca površinskega cvetenja cianobakterije *Aphanizomenon flos-aquae* iz Ledavskega jezera smo opazili tudi zanemarljivi delež celic *Microcystis aeruginosa* ter *Anabaena flos-aquae* (Slika 27).



Slika 27: V površinskem cvetenju filamentozne cianobakterije *Aphanizomenon flos-aquae* na Ledavskem jezeru najdeni tudi *Microcystis aeruginosa* (spodaj) ter *Anabaena flos-aquae* (zgoraj) (foto: Drolc T.)

Rezultati so pokazali, da številčno v večini vzorcev prevladuje cianobakterija *Microcystis aeruginosa*, razen v vzorcu Ledavskega jezera, kjer prevladuje *Aphanizomenon flos-aquae*, ter v vzorcu Savskega ribnika, kjer prevladuje *Woronichinia naegeliana* (Preglednica 3).

Preglednica 3: Rezultati števila celic fitoplanktona v vzorcih površinskega cvetenja.

	Ribnik Hotinja vas [št. celic/L]		Ribnik Podgrad [št. celic/L]		Ribnik Prvenci [št. celic/L]			Ribnik Savci [št. celic/L]	Ribnik Boreci [št. celic/L]	Ledavsko jezero [št. celic/L]
	dop	pop	05. 09. 2018	20. 09. 2018	05. 09. 2018	20. 09. 2018				
						dop	pop			
<i>M. aeruginosa</i>	4×10^{10}	$1,2 \times 10^{10}$	1×10^{10}	2×10^{10}	2×10^{10}	5×10^{10}	4×10^{10}	/	7×10^{10}	/
<i>M. flos-aquae</i>	6×10^9	$8,6 \times 10^9$	/	/	7×10^9	1×10^{10}	/	3×10^9	/	/
<i>Aph. flos-aquae</i>	/	$4,6 \times 10^7$	2×10^9	5×10^7	8×10^7	3×10^8	$1,4 \times 10^8$	7×10^7	6×10^7	4×10^{10}
<i>Ana. flos-aquae</i>	/	/	3×10^7	/	/	/	/	/	/	/
<i>W. naegeliana</i>	/	/	/	/	/	1×10^{10}	2×10^{10}	4×10^9	/	/
<i>Aph. issatschenkoi</i>	/	/	/	/	/	2×10^8	/	/	/	/
<i>M. viridis</i>	/	/	/	1×10^{10}	/	8×10^9	$5,4 \times 10^9$	/	/	/
<i>M. wasenbergi</i>	/	/	/	2×10^{10}	/	/	/	/	4×10^{10}	/
<i>Phormidium sp.</i>	3×10^9	$1,3 \times 10^9$	/	/	1×10^9	/	/	/	/	/
<i>Scenedesmus sp.</i>	/	$2,5 \times 10^7$	1×10^8	2×10^7	2×10^8	2×10^7	$3,7 \times 10^7$	2×10^7	2×10^7	1×10^7
<i>Sphaerocystis sp.</i>	/	/	2×10^7	/	/	/	/	4×10^7	2×10^7	1×10^7
<i>Ceartium sp.</i>	/	/	/	/	4×10^6	2×10^7	$3,5 \times 10^7$	/	/	/
<i>Pediastrum simplex</i>	/	/	/	/	/	4×10^7	4×10^7	3×10^7	2×10^7	3×10^7
<i>Pediastrum duplex</i>	/	/	/	/	/	/	$3,3 \times 10^7$	2×10^7	2×10^7	6×10^7
<i>Stephan. hantzschii</i>	/	/	/	/	/	/	/	2×10^7	2×10^7	/

Preglednica 4: Rezultati volumna celice ter skupnega biovolumna vrst v vzorcih površinskega cvetenja.

	Volumen celice [$\mu\text{m}^3/\text{celic}$]	Skupni biovolumen [$\mu\text{m}^3/\text{mL}$]									
		Ribnik Hotinja vas		Ribnik Podgrad		Ribnik Prvenci			Ribnik SAV	Ribnik BOC	LED jezero
		dop	pop	05. 09. 2018	20. 09. 2018	05. 09. 2018	20. 09. 2018				
							dop	pop			
<i>M. aeruginosa</i>	38,79	$1,6 \times 10^{12}$	$4,7 \times 10^{11}$	$4,3 \times 10^{11}$	6×10^{11}	$6,2 \times 10^{11}$	$2,1 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{12}$	/	$2,5 \times 10^{12}$	/
<i>M. flos-aquae</i>	27,17	$1,6 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^{11}$	/	/	$1,9 \times 10^{11}$	$2,6 \times 10^{11}$	/	9×10^9	/	/
<i>Aph. flos-aquae</i>	275,4	/	$1,2 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{10}$	$2,3 \times 10^{10}$	$6,9 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{10}$	$1,7 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{13}$
<i>Ana. flos-aquae</i>	85,7	/	/	$2,4 \times 10^9$	/	/	/	/	/	/	/
<i>W. naegeliana</i>	24,27	/	/	/	/	/	$2,7 \times 10^{11}$	5×10^{11}	$5,9 \times 10^{10}$	/	/
<i>Aph. issatschenkoi</i>	67,69	/	/	/	/	/	$1,2 \times 10^{10}$	/	/	/	/
<i>M. viridis</i>	68,24	/	/	/	$8,2 \times 10^{11}$	/	$5,1 \times 10^{11}$	$3,7 \times 10^{11}$	/	/	/
<i>M. wasenbergi</i>	69,05	/	/	/	$1,1 \times 10^{12}$	/	/	/	/	$2,6 \times 10^{12}$	/
<i>Phormidium sp.</i>	2,82	$7,7 \times 10^9$	$3,4 \times 10^9$	/	/	4×10^9	/	/	/	/	/
<i>Scenedesmus sp.</i>	138,52	/	$3,8 \times 10^9$	2×10^{10}	$2,4 \times 10^9$	3×10^{10}	$3,3 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$	$2,7 \times 10^9$	$1,8 \times 10^9$
<i>Sphaerocystis sp.</i>	342,42	/	/	$6,3 \times 10^9$	/	/	/	/	$1,3 \times 10^{10}$	$8,1 \times 10^9$	$4,9 \times 10^9$
<i>Ceartium sp.</i>	112661,56	/	/	/	/	$4,2 \times 10^{11}$	$1,8 \times 10^{12}$	$3,9 \times 10^{12}$	/	/	/
<i>Pediastrum simplex</i>	1722,98	/	/	/	/	/	$7,2 \times 10^{10}$	7×10^{10}	$5,8 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^{10}$	$5,8 \times 10^{10}$
<i>Pediastrum duplex</i>	797,3	/	/	/	/	/	/	$2,6 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	2×10^{10}	$4,3 \times 10^{10}$
<i>Stephan. hantzschii</i>	1834,01	/	/	/	/	/	/	/	$2,6 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^{10}$	/

SAV, Savci; BOC, Boreci; LED, Ledavsko jezero

Ker je veliko odstopanje v velikosti celic med bakterioplanktonom in ostalim planktonom, smo za pregled, koliko biomase zavzema določena vrsta v površinskem cvetenju vodnega telesa, izračunali skupni biovolumen in ga predstavili v preglednici Preglednica 4.

Preglednica 5: V odstotkih predstavljen skupni biovolumen cianobakterij, zelenih alg, diatomej in dinoflagelatov v naših vzorcih po lokacijah po Sloveniji.

Lokacija	Vzorčenje	Št. vrst fitoplankt. ^e	Cianobakterije	Zelene alge	Diatomeje	Dinofla.
HV	05. 09. 18 ^a	3 (0)	100,00%	/	/	/
	05. 09. 18 ^b	4 (1)	99,53 %	0,47 %	/	/
PC	05. 09. 18	4 (2)	65,16 %	2,33 %	/	32,52 %
	20. 09. 18 ^c	6 (3)	63,15 %	1,47 %	/	35,37 %
	20. 09. 18 ^d	4 (4)	37,71 %	1,55 %	/	60,73 %
POG	05. 09. 18	3 (2)	97,53 %	2,47 %	/	/
	20. 09. 18	4 (1)	99,90 %	0,10 %	/	/
BOC	20. 09. 18	3 (5)	98,07 %	1,25 %	0,67 %	/
SAV	20. 09. 18	3 (5)	40,83 %	41,97 %	17,19 %	/
LED	20. 09. 18	2 (4)	99,02 %	0,98 %	/	/

^a Dopoldansko vzorčenje, intenzivno površinsko cvetenje zavzema 1/3 ribnika

^b Popoldansko vzorčenje, površinsko cvetenje je bilo zaznati samo na iztoku ribnika

^c Dopoldansko vzorčenje površinskega cvetenja

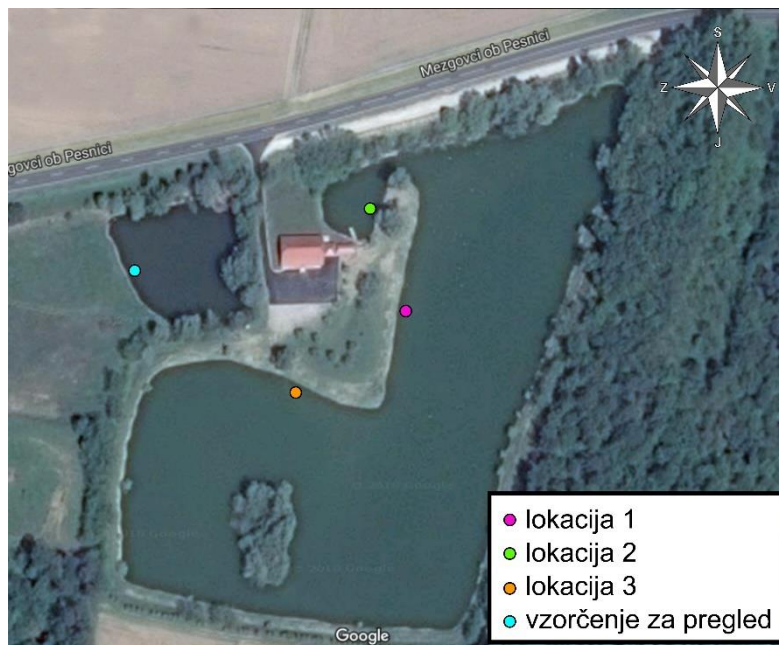
^d Popoldansko vzorčenje površinskega cvetenja

^e Številke v oklepajih predstavljajo ostale fitoplanktonske taksone

V preglednici Preglednica 5 so predstavljeni odstotki skupnega biovolumna rodov. Vidimo, da v površinskem cvetu večji del biovolumna predstavljajo cianobakterije, razen v primeru Prvenci v popoldanskem času, kjer večji del biovolumna predstavljajo dinoflagelati.

4.2.2 Primerjava lokacije vzorčenja ter dnevno spreminjanje morfologije površinskega cvetenja

Da dokažemo, da površinsko cvetenje na vodnem telesu ni enako porazdeljeno, smo na eni lokaciji vzorčili na več mestih, kot je to prikazano na sliki Slika 28.



Slika 28: S točkami prikazana vzorčna mesta (lokacije) na ribniku v Prvencih (vir: Google zmeljevid).

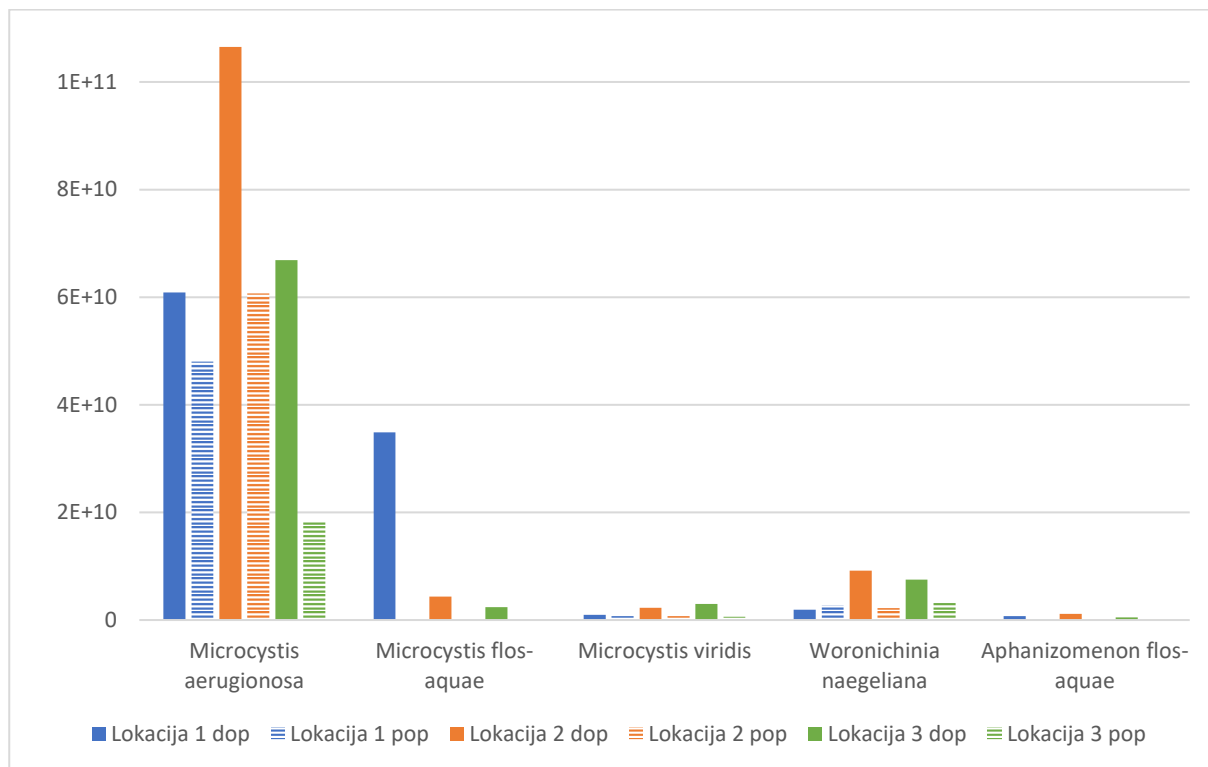
Za vzorčna mesta smo se odločili na podlagi pogleda iz brezpilotnega letala (Slika 29).



Slika 29: Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* na ribniku v Prvencih. Levo pogled iz brezpilotnega letala Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.). Od A do C posnetki prikazujejo površinsko cvetenje na različnih lokacij v dopoldanskem času ter posnetki od D do F prikazujejo površinsko cvetenje (oz. razpršeni cvet) v popoldanskem času (foto: Drolc T.).

Po sliki Slika 29 sodeč je opaziti povečano intenzivnost (gostost) površinskega cvetenja na različnih lokacijah. Močnejše cvetenje je prisotno pri ribiški hiši (lokacija 2) ter tanjše površinsko cvetenje na lokaciji 3. Rezultati števila celic cianobakterij po lokacijah v dopoldanskem času so prikazani na sliki Slika 30.

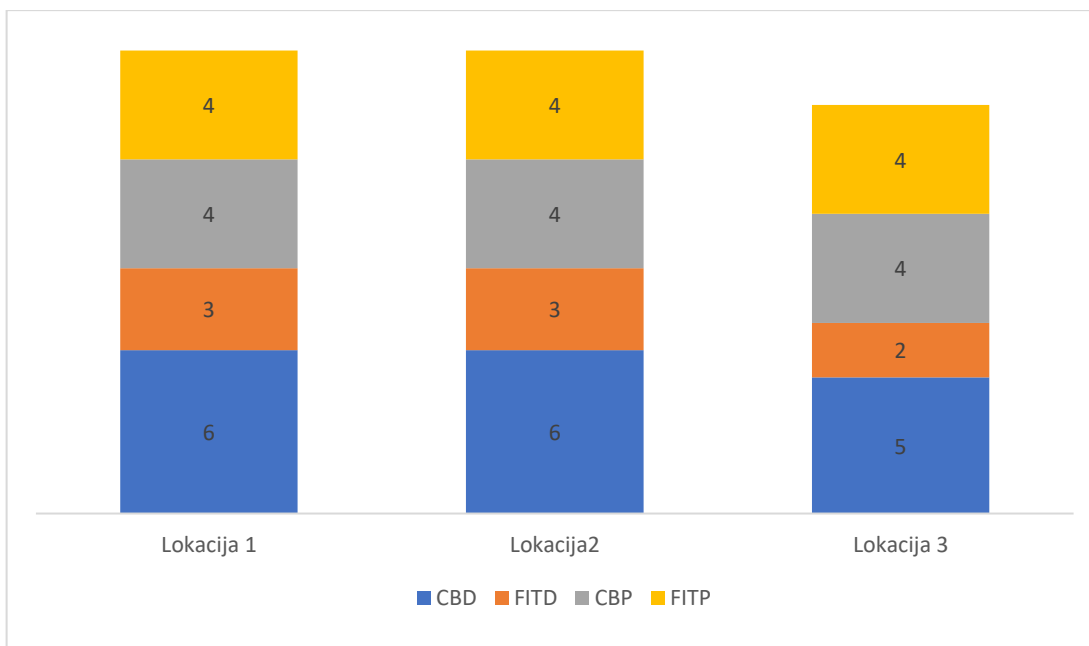
V popoldanskem času, kot je to prikazano na sliki Slika 29, vidimo, da je površinsko cvetenje minimalno, vendar je slabša vidljivost v vodi. Površinsko cvetenje se je spustilo proti dnu ribnika. To lahko vidimo tudi pri primerjavi dopoldanskega in popoldanskega vzorca na sliki Slika 30, kjer vidimo, da se je pri vseh lokacijah zmanjšalo število celic cianobakterij v površinskem cvetenju.



Slika 30: Vrsta sestava cianobakterij v površinskem cvetenju za dopoldanski in popoldanski čas vzorčenja na različnih lokacijah na ribniku v Prvencih. Polni stolpci prikazujejo rezultate dopoldanskega vzorčenja. Črtkani stolpci prikazujejo rezultate popoldanskega vzorčenja. Rezultati so podani kot št. celic/L.

Število celic *Microcystis aeruginosa* se je na lokaciji 1 iz dopoldanskega površinskega cvetenja na popoldansko površinsko cvetenje zmanjšalo za kar 78 %, na lokaciji 2 za 57 % ter na lokaciji 3 za 27 %. V popoldanskem vzorcu ni bilo zaslediti vrste *Microcystis flos-aquae*.

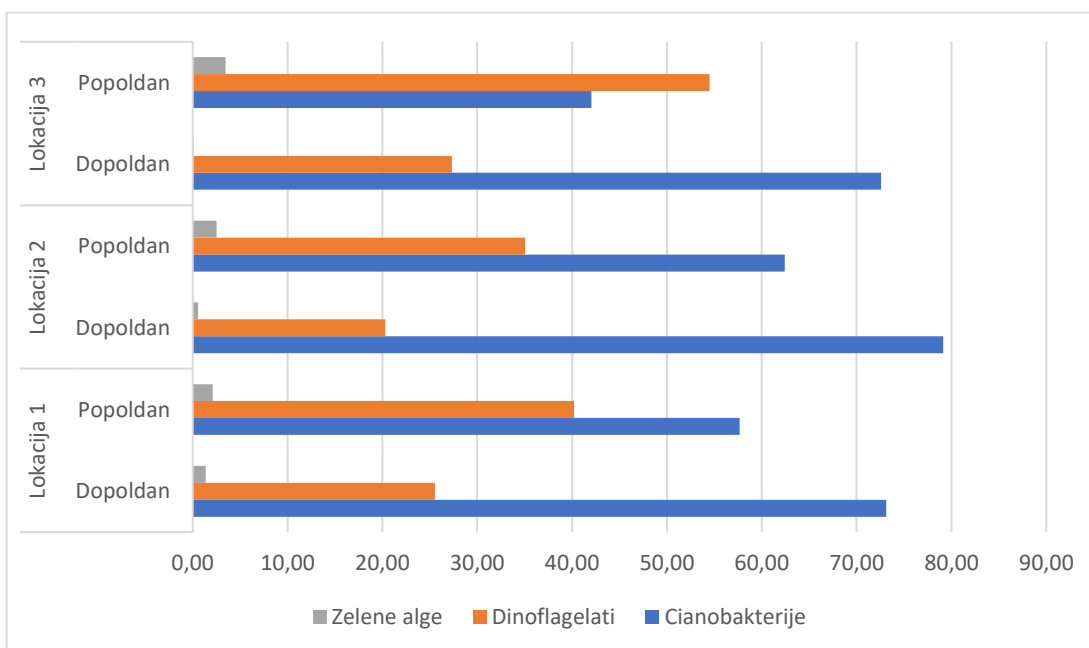
Rezultati so pokazali, da je v dopoldanskem vzorcu bilo šest različnih vrst cianobakterij in samo tri različne vrste drugih fitoplanktonskih organizmov. V popoldanskem vzorcu se je število vrst cianobakterij v površinskem cvetu zmanjšalo na štiri vrste; število fitoplanktonskih vrst se je povečalo iz tri na štiri različne vrste (Slika 31).



CBD – število vrst cianobakterij v dopoldanskem času
 FITD – število vrst drugih fitoplanktonov v dopoldanskem času
 CBP – število vrst cianobakterij v popoldanskem času
 FITP – število vrst drugih fitoplanktonov v popoldanskem času

Slika 31: Sestava površinskega cvetenja na ribniku v Prvencih na različnih vzorčnih mestih (lokacijah).

Slika 32 nam prikazuje spreminjanje skupnega biovolumna po lokacijah ter v času dneva. Opazimo, da je na vseh lokacijah v dopoldanskem času približno enak odstotek cianobakterij (70 %) ter približno enak odstotek drugega fitoplanktona (30 %). V popoldanskem času se je zvišal odstotek drugega fitoplanktona glede na stanje v dopoldanskem času. Na lokaciji 3 skupni biovolumen dinoflagelatov presega skupni biovolumen cianobakterij.



Slika 32: Skupni biovolumen organizmov v površinskem cvetenju na različnih lokacijah v ribniku Prvenci, v dopoldanskem in popoldanskem času (datum vzorčenja: 20. 09. 2018).

Za določitev biovolumna kolonije je bilo potrebno izračunati, kolikšno površino zavzema celica v koloniji. Rezultati so predstavljeni v preglednici Preglednica 6. Vidimo, da je površina, ki jo celice znotraj kolonije *Microcystis flos-aquae* zavzemajo, dvakrat večja od površine, ki jo zavzemajo celice v kolonijah *Microcystis aeruginosa* v primerjavi z *Microcystis flos-aquae*. Velikost celice je tisti prostor, ki ga zavzema celica. Velikost kolonije so celice skupaj s prostorom, ki ga zavzemajo še medprostori, ki so napolnjeni z mukusom oziroma je lahko vse skupaj ovito z membrano.

Preglednica 6: Podatki za celice znotraj kolonije.

	Volumen celice [μm^3]	Razdalja med celicami [μm]	Površina celice v koloniji [μm^2]
<i>Microcystis aeruginosa</i>	38,79	0,47	21,81
<i>Microcystis flos- aquae</i>	27,17	3,54	52,85

Preglednica 7: Primerjava velikosti *Microcystis aeruginosa* in *Microcystis flos-aquae* v vzorcih iz Prvencev.

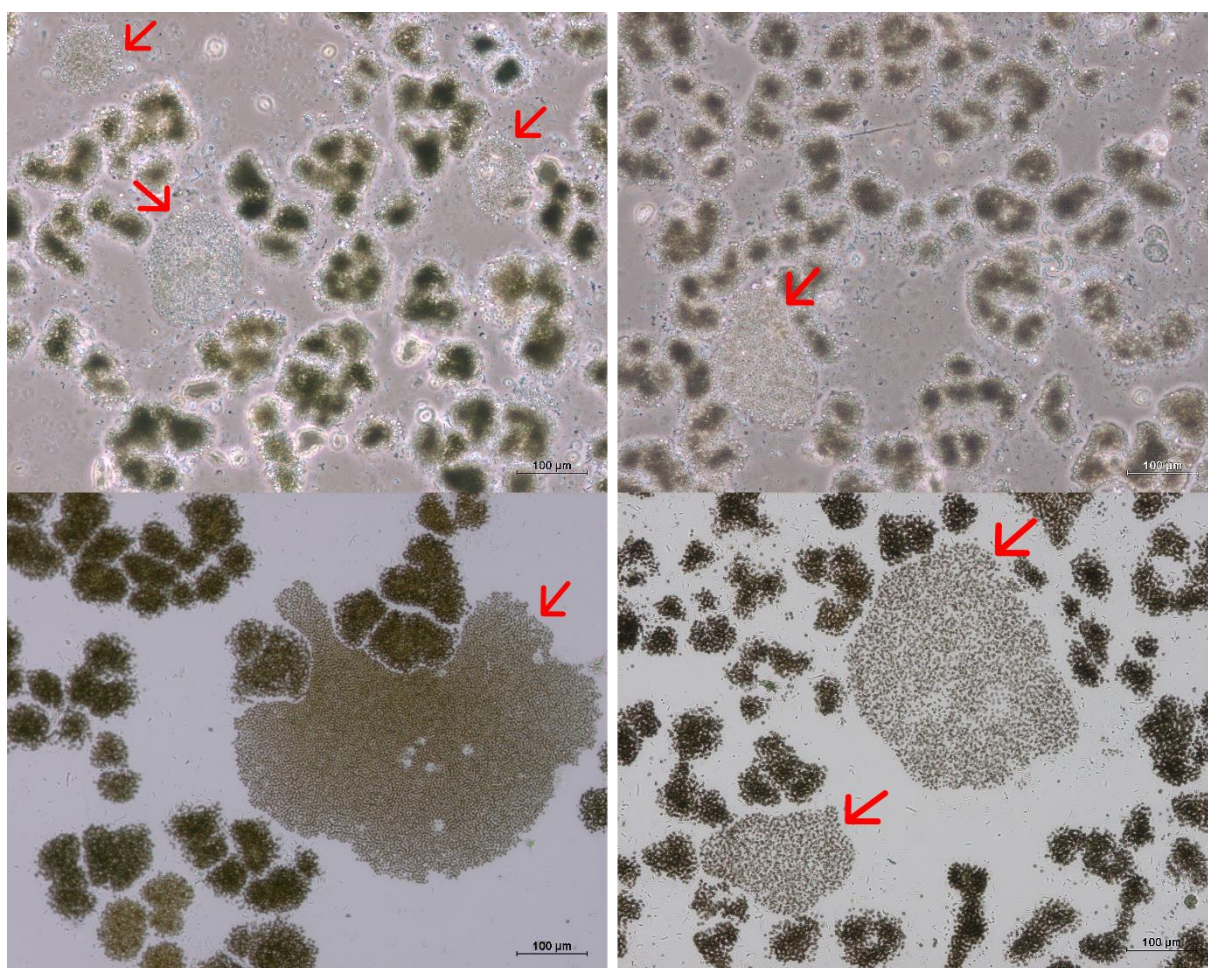
Čas	<i>Microcystis aeruginosa</i>			<i>Microcystis flos-aquae</i>		
	Površina kolonije [μm^2]	Št. celic v koloniji	Biovolumen kolonije [μm^3]	Površina kolonije [μm^2]	Št. celic v koloniji	Biovolumen kolonije [μm^3]
Dopoldan	212228	9730	$3,8 \times 10^5$	20114	380	$1,0 \times 10^4$
Opoldan	130026	5961	$2,3 \times 10^5$	52611	995	$2,7 \times 10^4$
Popoldan	83746	3839	$1,5 \times 10^5$	/	/	/

V preglednici Preglednica 7 opazimo, da so kolonije *Microcystis aeruginosa* bistveno večje od kolonij *Microcystis flos-aquae*. Prav tako vidimo, da so kolonije *Microcystis aeruginosa*, ki so prisotne na površini v dopoldanskem času, večje kot v popoldanskem. Kolonije *Microcystis flos-aquae*, ki so prisotne na površini v dopoldanskem času, so manjše od tistih v opoldanskem času; v popoldanskem času jih ni bilo zaslediti.

Preglednica 8: Primerjava velikosti kolonij *Microcystis aeruginosa* in *Microcystis flos-aquae* v vzorcih iz Hotinje vasi.

Čas	<i>Microcystis aeruginosa</i>			<i>Microcystis flos-aquae</i>		
	Površina kolonije [μm^2]	Št. celic v koloniji	Biovolumen kolonije [μm^3]	Površina kolonije [μm^2]	Št. celic v koloniji	Biovolumen kolonije [μm^3]
Dopoldan	5131	235	$9,1 \times 10^4$	6056	114	$3,1 \times 10^3$
Popoldan	4261	195	$7,6 \times 10^4$	41237	780	$2,1 \times 10^4$

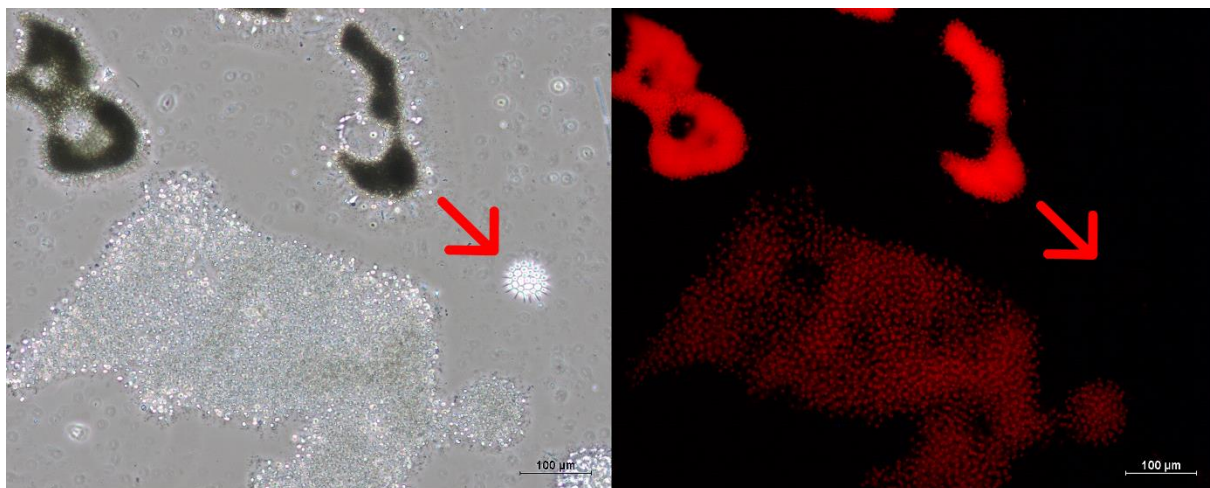
V Preglednica 8 opazimo, da so kolonije *Microcystis aeruginosa* manjše od kolonij *Microcystis flos-aquae*. Prav tako opazimo, da so kolonije *Microcystis flos-aquae* v popoldanskem času bistveno večje od teh istih kolonij v dopoldanskem času. Nazorno je to prikazano na sliki Slika 33, kjer je bistvena razlika med velikostjo kolonij *Microcystis flos-aquae* v dopoldanskem in popoldanskem času.



Slika 33: Primerjava velikosti kolonij *Microcystis flos-aquae* v površinskem cvetenju na površini ribnika v Hotinji vasi. Zgornji dve sliki sta površinski cvetenji iz vzorcev, vzorčenih v dopoldanskem času. Spodnji sliki sta površinski cvetenji iz vzorcev, odvzetih v popoldanskem času. Na slikah so s puščicami označene kolonije *Microcystis flos-aquae*. Slike so bile narejene pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).

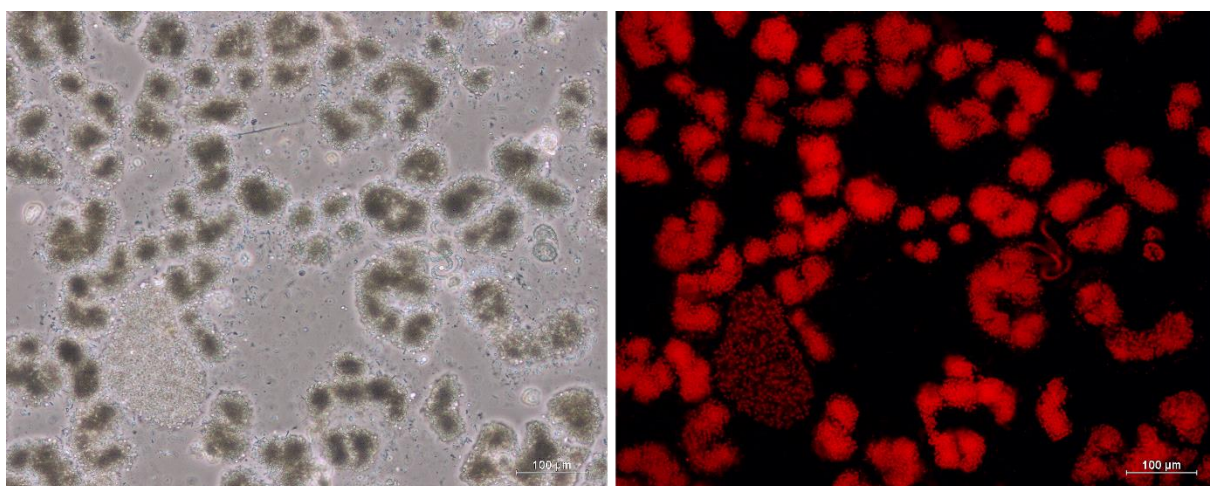
4.3 Analize s pomočjo vidne svetlobe in fluorescence

Cianobakterije pri fotosintezi uporabljajo pomožne pigmente, imenovane fikobilisome, ki fluorescirajo pri drugi valovnih dolžinah kot zelene alge, ki tega pigmenta nimajo. Zato smo avtofluorescenco pigmentov opazovali pod epifluorescenčnim mikroskopom Eclipse T300 (Nikon) z uporabo filtra B-2A z vzbujanjem med 541 in 551 nm pri 100-kratni povečavi. Kot je prikazano na sliki Slika 34, pod vidno svetlobo vidimo cianobakterijo *Microcystis aeruginosa* ter zeleno algo *Pediastrum sp.* Po osvetlitvi vzorca z uporabo filtra B-2A, ki ne prepušča fluorescence klorofila, zelene alge *Pediastrum sp.* na sliki ni več opaziti.



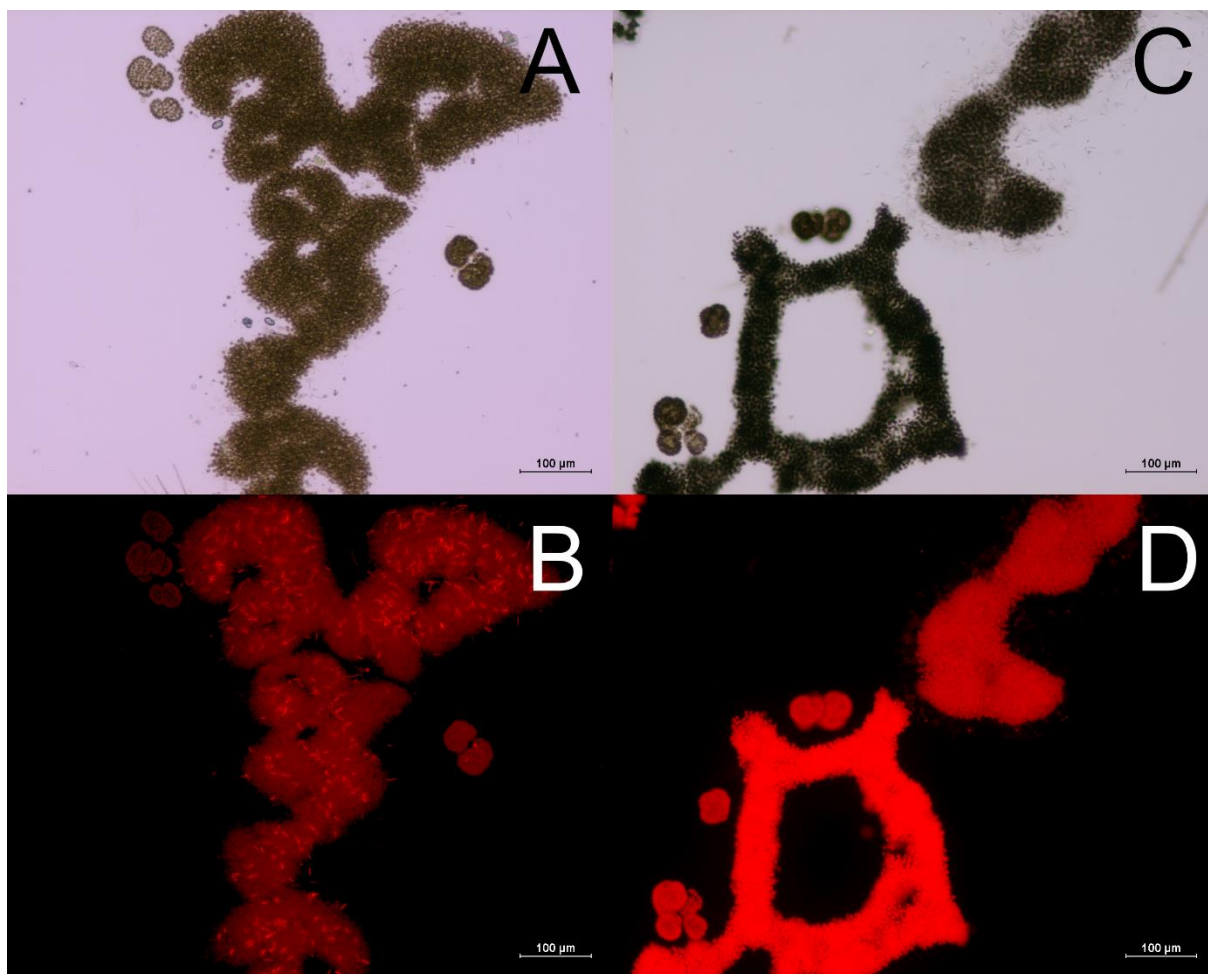
Slika 34: Prikaz fluorescence fikocianina v površinskem cvetenju pod epifluorescenčnim mikroskopom Eclipse T300. Na levi strani je površinsko cvetenje pod vidno svetlobo pri 100-kratni povečavi, kjer je s puščico prikazan *Pediasstrum* sp. Na desni strani je to isto cvetenje z uporabo filtra B-2A, kjer je s puščico prikazano mesto, kjer je pri vidni svetlobi opaziti *Pediasstrum* sp (foto: Drolc T.).

Z osvetlitvijo cianobakterijskega cvetenja z belo svetlobo ločimo ozadje od samih kolonij ter celic (Slika 35). Tako lahko lažje prepoznamo vrste cianobakterij v samem vzorcu.



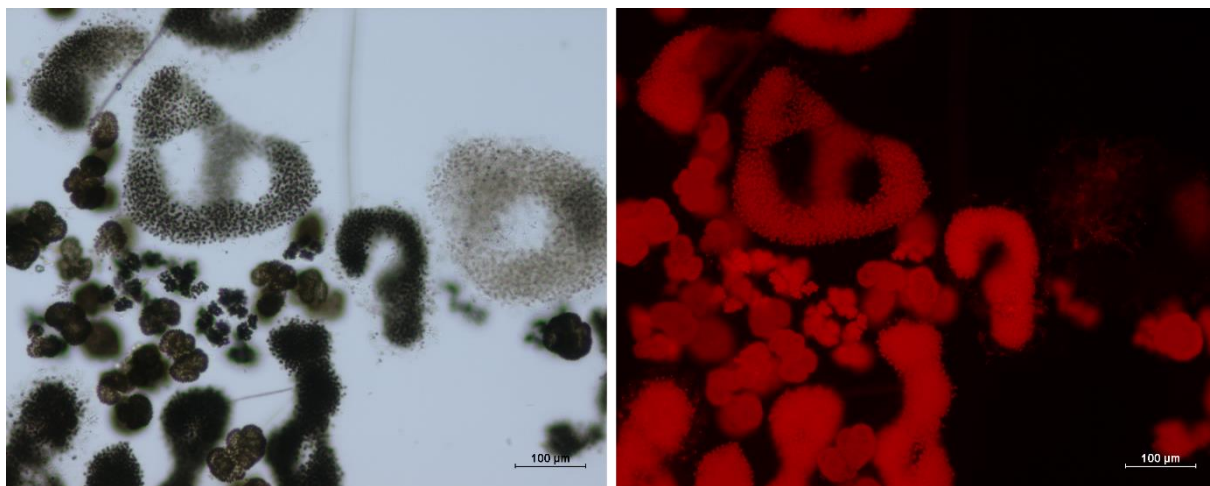
Slika 35: Površinsko cvetenje *Microcystis aeruginosa* pod vidno svetlobo levo in desno fluorescenco fikocianina z uporabo filtra B-2A (foto: Drolc T.).

Pri fiksiranih celicah je onemogočen prenos energije v naslednjih korakih, zato te fluorescirajo močneje. Na sliki Slika 36 sta prikazani cianobakteriji *Microcystis aeruginosa* ter *Woronichia naegliana*. Opazimo, da pri enakem času izpostavljenosti svetlobe (250 ms) levi vzorec (živi vzorec) odda manj fluorescence kot desni vzorec (fiksiran vzorec).



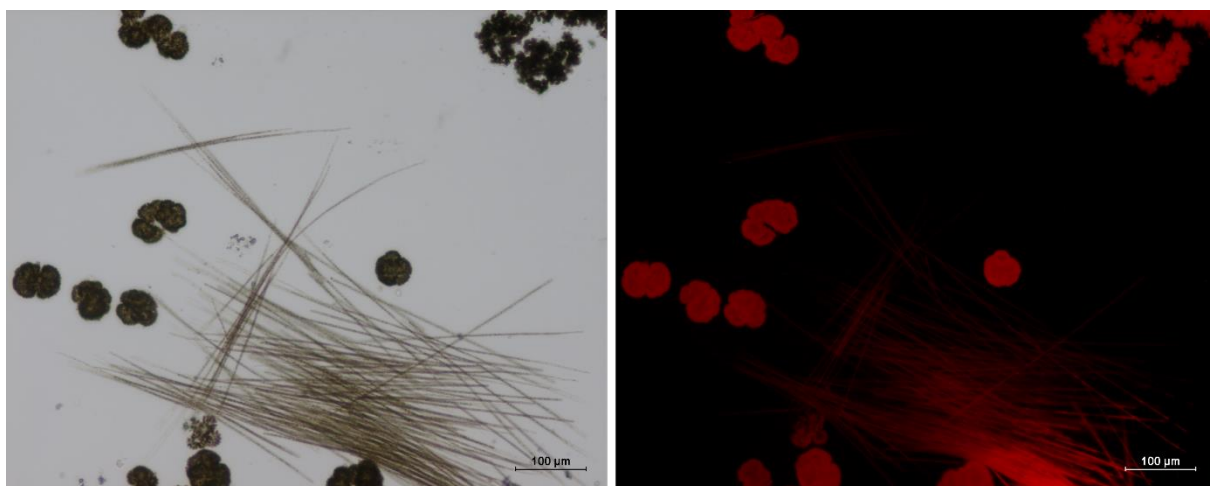
Slika 36: Primerjava cianobakterij *Microcystis aeruginosa* ter *Woronichia naegliana* v živem (levo) in fiksiranem (desno) vzorcu. Vzorca sta bila pri enakem času izpostavljenosti svetlobe, 250 ms. Posnetki so bili posneti pri 100-kratni povečavi. Sliki A in C prikazujejo vidno svetlobo; sliki B in D prikazujeta fluorescenco fikocianina (foto: Drolc T.).

Po izpostavitvi vzorca z belo svetlobo pod filtrom B-2A osvetlitvijo (167 ms) lahko na sliki Slika 37 vidimo, da različne vrste cianobakterij fluorescirajo različno pri enakem času izpostavitve svetlobnemu viru enake intenzitete. Vidimo, da kolonije, kjer so celice tesneje skupaj, fluorescirajo močneje kot tiste v starejših (perforiranih) kolonijah.

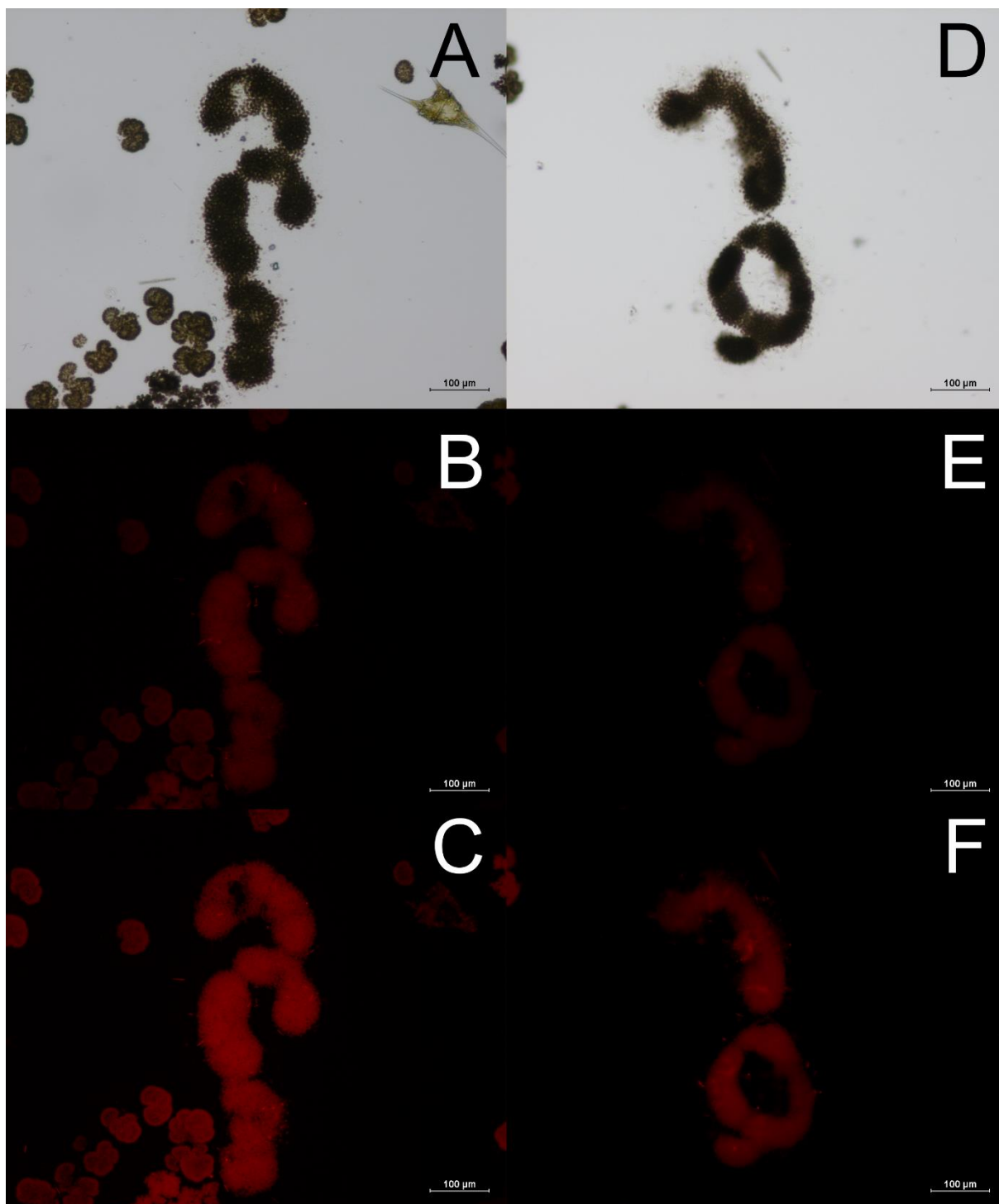


Slika 37: Prikaz različne oddane fluorescence za različne vrste cianobakterij pri enaki časovni izpostavitvi beli svetlobi, 167 ms (desna slika). Leva slika površinskega cvetenja je v vidni svetlobi, desna prikazuje fluorescenco fikocianina. Posnetka sta posneta pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).

Na sliki Slika 38 vidimo da *Woronichinia naegliana* ter *Microcystis viridis* oddajata več fluorescence kot *Aphanizomenon flos-aquae*.

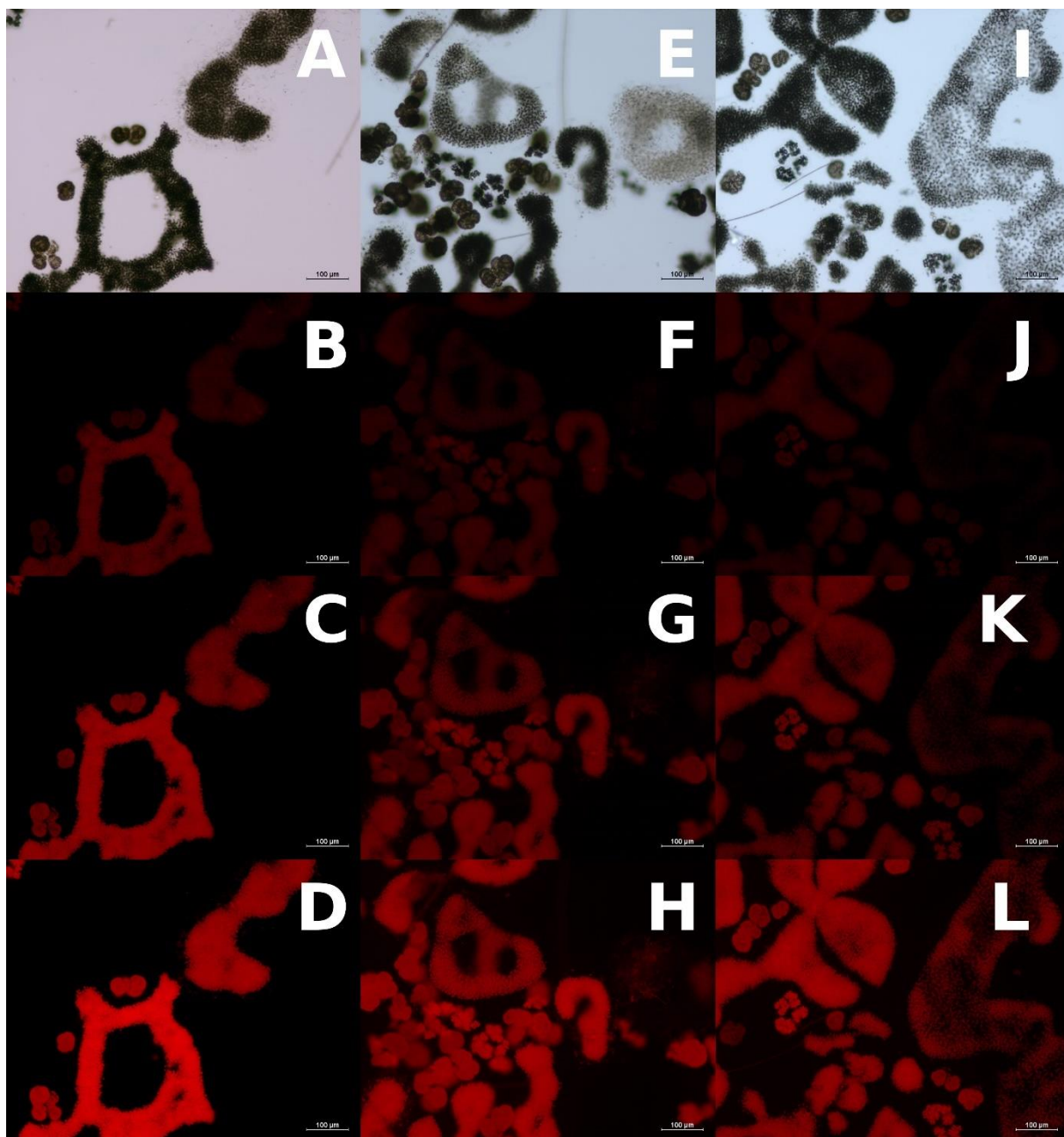


Slika 38: Prikaz različno oddane fluorescence vrst cianobakterij pri enaki časovni izpostavitvi svetlobe, 167 ms. Primerjava med vrstami *Aphanizomenon flos-aquae*, *Woronichinia naegliana* ter *Microcystis viridis*. Posnetka sta posneta pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).



Slika 39: Primerjava *Microcystis aeruginosa* iz živega vzorca iz lokacije Prvenci v dopoldanskem času (levi stolpec) in v popoldanskem času (desni stolpec). Slike so bile posnete pri izpostavitvi bele svetlobe za 83 ms (B in E) in 167 ms (C in F) pod filtrom B-2Ai. Posnetki so posneti pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).

Za boljše razumevanje dnevne morfologije površinskega cvetenja smo pod drobnogled vzeli žive vzorce iz ribnika Prvenci. Površinski cvet (dopoldanskega in popoldanskega) smo osvetlili z belo svetlobo in gledali pod filtrom B-2A, da bi pregledali oddane fluorescence fikocijanina. Rezultati so predstavljeni na sliki Slika 39. Opazimo pomembno razliko v oddani fluorescenci v dopoldanskem času in v popoldanskem času. Sliki A in D predstavljata vidno svetlobo; B in E sliki sta bili izpostavljeni beli svetlobi za 83 ms, sliki C in F pa za 167 ms. V obeh primerih vidimo, da je bilo v popoldanskem času oddane manj fluorescence kot v popoldanskem času.



Slika 40: Primerjava obstojnosti fluorescence v fiksiranem vzorcu površinskega cvetenja. Prvi stolpec je bil posnet dan po tem, ko smo vzorec fiksirali s 37 % formaldehidom. Drugi stolpec je bil posnet en teden po fiksiranju in tretji stolpec dva tedna po fiksiranju. Slike so bile posnete pri 100-kratni povečavi (foto: Drolc T.).

Primerjali smo obstojnost fluorescence v fiksiranem vzorcu površinskega cvetenja iz ribnika v Prvencih (Slika 40). Sliki A, E, I predstavljajo vidno svetlobo; B, F in J slike so bile izpostavljene beli svetlobi 40 ms, slike C, G in K 83 ms, slike D, H in L pa 167 ms. Rezultati slik so pokazali večjo oddajanje fluorescence v dnevu takoj po fiksaciji vzorca. Rezultati slik iz prvega in drugega tedna so primerljivi.

5 RAZPRAVA

Številne površinske vode so danes dodatno izpostavljene prevelikemu vnašanju hranil antropogenega izvora iz komunalnih odpadkov, izpiranju umetnih in naravnih gnojil z agrarnih površin in industrijskim odplakam. To pomeni dodatno hrano za fitoplankton, zaradi česar pride do pojava cvetenja na površini vodnih teles. Cvetenje je množična namnožitev fitoplanktona, v katerem so organizmi visoko koncentrirani in kjer pogosto prevladuje ena vrsta. Cvetenje običajno poimenujemo po rodu oziroma vrsti, ki prevladuje po številu ali po biomasi. Poseben pomen pripisujemo površinskemu cvetenju cianobakterij ter njihovim biološko aktivnim snovem, ki jih cianobakterije ob cvetenju ter propadu proizvajajo v velikih količinah. Sproščanje teh snovi v vodno okolje ogroža druge organizme, ki prihajajo z njimi v stik, vključno s človekom. S prisotnostjo cianobakterijske biomase se povečujejo tveganja za pojavljanje zdravstvenih težav, povezanih ob izpostavljenosti cianotoksinom. Velika cianobakterijska biomasa je z estetskega stališča moteča, zmanjšuje možnost rekreativnih dejavnosti, ob propadu površinskega cvetenja povzroča sproščanje neprijetnih vonjav in daje odbijajoč okus pitni vodi, kadar je ta pridobljena iz tako onesnaženega vira. Cianobakterijska cvetenja se pojavljajo v različnih oblikah, kar je odvisno od številčnosti cianobakterij ter od hidroloških in meteoroloških dejavnikov.

V Republiki Sloveniji najdemo vse oblike cianobakterijskih sevov (Sedmak in Kosi, 2002). Njihove različno pojavne oblike ne predstavljajo enake grožnje za okolje. Cianobakterije, ki so v vodnem telesu enakomerno porazdeljene, niso tako nevarne kot tiste nakopičene na površini vodnega telesa. Vodna telesa, kjer se običajno pojavljajo površinska cvetenja, so predvsem ribniki, jezera ter vodna zajetja za pitno vodo. Slednja predstavljajo izredno grožnjo za človeka. V Italiji je prizadetih več vodnih zajetij. Tudi pri nas smo se srečali z vdorom mikrotoksinov v pitni vodi. V Sloveniji je bil leta 1997 primer vdora mikrocistinov v vodarne ob reki Dravi kot posledica gradnje avtoceste v Mariboru. Zaradi prekinitve podvodnih tokov v smeri proti Dravi je voda iz vodnih teles v času cvetenja cianobakterij poniknila v podtalnico in onesnažila vodarne (Sedmak, 2011). Letos se s problemom cvetenja cianobakterij srečujemo predvsem v ribnikih in tudi jezerih. Jezera, na katerih je bilo že v preteklosti potrjeno cvetenje cianobakterij, so Ledavsko jezero, Škalsko jezero ter Velenjsko jezero in tudi Blejsko jezero. Slednje predstavlja večjo ogroženost, saj je jezero priznано kot kopališče ter tudi bogato obiskovano.

Ribniki s ciprinidnimi vrstami rib sicer potrebujejo visok delež alg, ki predstavljajo hrano ribam in predvsem ribjim mladim. Ob ribolovu se pogosto z vabami vnašajo v vodno telo še dodatne organske snovi, ki povečujejo trofičnost oziroma previsoko obogatenost s hranili. Ob določenih okoljskih razmerah lahko pride v takšnem vodnem telesu do prekomernega razvoja fitoplanktona, ki lahko popolnoma prekrije vodno površino. Do takih pojavov prihaja pozno spomladi poleti ali jeseni, v obdobjih z visokimi temperaturami in intenzivno osvetljenostjo vode. Zaradi načina lovljenja (hranjenja) tako prihaja do povečanja onesnaženja samih ribnikov in jezer ter s tem še povečano razmnoževanje fitoplanktona.

5.1 Spopadanje ribiških družin s površinskim cvetenjem cianobakterij

Številne ribiške družine poskušajo obvladovati oziroma preprečiti razmnoževanje cianobakterij. Tako so v Hotinji vasi (Slika 5) pri Mariboru postavili črpalno napravo, s katero naj bi z mešanjem vodnih mas obvladovali pojavljanje nevarnih cvetenj cianobakterij. V Hotinji vasi so skupaj tri manjša vodna telesa v neposredni bližini črpališča pitne vode za mesto Maribor. Tudi drugi dve vodni telesi obvladujejo cianobakterije. Oba deli makadamska cesta in pod njo poteka povezava, ki so jo vzpostavili s pomočjo vodovodnih cevi (Slika 41). Tudi v tem

nekoliko večjem vodnem telesu na sliki Slika 41, kjer je ribiška družina postavila manjšo kočo, so neuspešno poskušali obvladovati cvetenje s pomočjo mešanja vodnih mas z vodnim curkom in ga v letu 2018 tudi izpraznili (osebni stik s člani ribiškega društva Maribor, 2018). Posledično je vodna gladina tudi v sosednjem povezanem ribniku močno upadla.



Slika 41: Izsušeni ribnik na obrobju Hotinje vasi (foto: prof. dr. Sedmak B.).

V Prvencih je tudi postavljena črpalna naprava, ki pri tako velikem ribniku ne pomaga kaj dosti, saj preprečuje oblikovanje cveta samo v okolici črpalne naprave, ne po celem ribniku. V tem primeru gre predvsem za lokalno mešanje vodnih mas, kjer so cianobakterije prav tako prisotne, saj se cianobakterije nenadzorovano razmnožujejo.

V Podgradu pri Gornji Radgoni (Slika 9) poskušajo preprečiti razmnoževanje cianobakterij z vnosom kemikalij v okolje (osebni stik s člani ribiške družine Gornja Radgona, 2018). Seveda gre predvsem za kratkotrajno rešitev, saj se v krajšem času cianobakterije zopet namnožijo in ponovno ustvarijo površinski cvet, vendar vnos kemikalij v vodno telo predstavlja drugo grožnjo. Vnos kemikalij, kot so modra galica (bakrov sulfat), kalcijev oksid (apno), v ribniku ali jezeru povzroči lizo (propad celic) cianobakterijskega cveta. Kemikalije povzročijo hiter razpad cveta, kar pomeni, da se v vodo nenadoma sprosti ves organski material cianobakterij. Ob tem se v vodno telo sprostijo velike količine cianotoksinov, ki lahko že sami povzročijo pogin rib. Prav tako organski material cianobakterij začne razgrajevati bakterije, ki pri tem porabljajo kisik in tako povzročijo njegovo pomanjkanje, kar privede do anoksije. Zato le takšno spopadanje s površinskim cvetenjem ni zaželeno, niti ni priporočljivo, saj s tem pobijemo tudi številne koristne organizme v vodnem telesu. Drugod po terenu nismo opazili ali izvedeli, kako se borijo proti pojavu cvetenja cianobakterij.

5.2 Uporaba brezpilotnega letala z namenom raziskovanja pojava površinskega cvetenja cianobakterij

Zaradi vse večjega problema cvetenja cianobakterij prihajajo v poštev zgodnje zaznavanje samega površinskega cvetenja. Tako nadzor s pomočjo satelitov omogoča zaznavanje klorofila, obseg in rast fitoplanktonskih cvetenj. Zato se vedno več uporablja brezpilotna letala z namenom raziskovanja za pregled obsega cvetenj v vodnih telesih. Tako dobimo predstavbo, kje cvet je, kako se obnaša v vodnem telesu ter kakšna je njegova porazdelitev. Manjša vodna telesa, kot sta lokaciji v Podgradu pri Gornji Radgoni in v Hotinji vasi, so s stališča pregleda nad dogajanjem v vodnem telesu in odvzema vzorcev dobro obvladljiva (Slika 42).



Slika 42: Posnetki površinskega cvetenja na ribnikih v Hotinji vasi (levo) in v Podgradu pri Gornji Radgoni (desno). Posnetka sta bila posneta z brezpilotnim letalom Phantom 4 pro (foto: prof. dr. Sedmak B.)

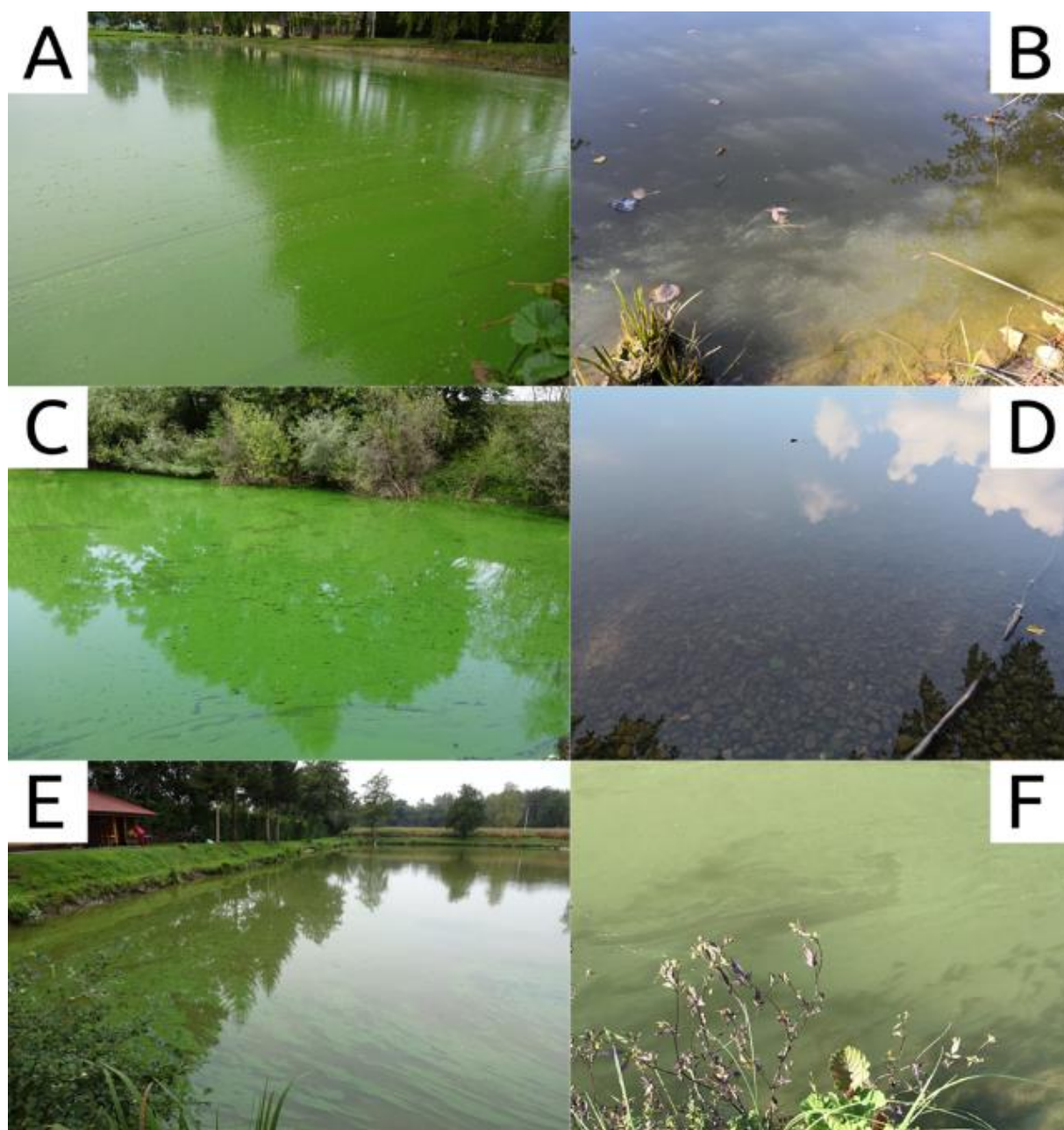
Edini problem, ki smo ga zaznali pri uporabi brezpilotnega letala, je bilo v Hotinji vasi, in sicer bližina letališča, kjer je prepoved letenja na večjih višinah. Mnogo težje razmere za nadzor so pri večjih vodnih telesih, kot sta na primer ribnik Savci (Slika 10) in ribogojnica v Prvencih pri Ptujju ali Ledavsko jezero. Ker so to relativno velika vodna telesa, je dostop do nekaterih mest težak, zato je uporaba brezpilotnega letala za dober pregled stanja vodnega vira praktično edina izbira.

V Prvencih, kjer sta hkrati ribnik in ribogojnica, poskušajo vzdrževati znosno stanje v vodnem telesu z mešanjem vodnih mas, podobno kot v Hotinji vasi. Ugotovili smo, da je tu urejenim razmeram navkljub cvetenje zelo izrazito in dostopnost na nekaterih mestih enostavna, vendar lahko samo z uporabo brezpilotnega letala v resnici ocenimo obseg cvetenja (Slika 8).

Ledavsko jezero je veliko vodno telo, ki je na nekaterih mestih težko dostopno (Slika 12). Iz satelitskega posnetka je razvidno, da je nekakšna tvorba na samem jezeru. Zaradi nedostopnosti terena tega nismo mogli preučiti, vendar lahko sklepamo, da gre tam za nekakšen množičen pojav površinskega cvetenja *Aphanizomenon flos-aquae*. Tako bi bila uporaba brezpilotnega letala za dober pregled stanja vodnega vira praktično edina izbira.

5.3 Površinsko cvetenje cianobakterij

V nalogi smo pod drobnogled vzeli šest lokacij, in sicer ribnik v Hotinji vasi pri Mariboru, ribnik v Prvencih pri Ptujju, ribnik v Savcih, ribnik v Podgradu pri Gornji Radgoni, ribnik v Boreci ter Ledavsko jezero. Na sliki Slika 43 so vidne različne oblike površinskega cveta na vodnih telesih. Zato smo vzorce površinskih cvetov pogledali pod mikroskopom.



Slika 43: Površinsko cvetenje fitoplanktona na šestih lokacijah. (A) Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* na ribniku v Hotinji vasi; (B) površinsko cvetenje *M. aeruginosa* ter *M. wasenbergi* na ribniku v Boreci; (C) Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* ter *M. flos-aquae* na ribniku v Prvenci; (D) površinsko cvetenje *Aphanizomenon flos-aquae* na Ledavskem jezeru; (E) površinsko cvetenje *M. aeruginosa* na ribniku v Podgradu pri Gornji Radgoni; (F) površinsko cvetenje *M. flos-aquae* ter *Woronichinia naegeliana* na ribniki Savci (Foto: Drolc T. in prof. dr. Sedmak B.)

Rezultati nam povedo, da imajo v površinskem cvetu cianobakterije izrazito konkurenčno prednost pred drugim fitoplanktonom (Slika 13). Fitoplankton na površju izkorišča visoke stopnje svetlobne obsevanosti na vodni površini za optimizacijo fotosintezne potrebe (Paerl in sod., 1983; Hausman in sod., 2004). Cianobakterije vsebujejo fikobiliproteine, pomožne pigmente, ki zagotavljajo dolgoročno preživetje v izjemno visokih pogojih svetlobnega obsevanja (Castenholz in Garcia-Pichel, 2000; Ding in sod. 2013). Omejitve svetlobe lahko izzovejo razpršeni delci različnega izvora ali medsebojno senčenje fitoplanktona. Ta okolja zmanjšajo svetlobo do te mere, da ostanejo samo cianobakterije konkurenčne. V plitvih evtrofnih vodnih telesih prihaja do sezonske periodičnosti populacij fitoplanktona na površju

vodnega telesa (Reynolds, 1980). Pregled vzorcev iz dopoldanskega časa je pokazal, da je tam, kjer je bil razrast cianobakterij množičen, bilo manj prisotnih drugih organizmov: samo tri do dve različni vrsti. Tam, kjer se je cvet komaj začel oblikovati, je bilo v njem več vrst drugih fitoplanktonov.

Vzorci so vsebovali naslednje cianobakterije: *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Phormidium sp.*, *Microcystis viridis*, *Woronichinia naegliana* ter *Microcystis wasenbergi*.

Iz meritev vzorca iz Podgrada (vzorčenega dne 05. 09. 2018 ter 20. 09. 2018 v različnem časovnem območju) smo opazili, da so se v drugem vzorčnem času v površinskem cvetu pojavile tudi druge vrste cianobakterij (Slika 20 in Slika 21). V obeh primerih je bila prisotna *Microcystis aeruginosa*. V vzorcu iz dne 20. 09. 2018 smo opazili precejšen delež odpadne biomase cianobakterij, zaradi česar sklepamo, da je bila v ribnik vnesena kemikalija (kot je npr. modra galica) za uničenje površinskega cveta.

Po pregledu površinskega cvetenja v Prvencih smo ugotovili, da se v cvetu pojavljajo tudi drugi fitoplanktonski organizmi, kot so zelene alge *Scenedesmus sp.*, *Sphaerocystis sp.*, *Pediastrum sp.*, dinoflagelat *Ceratium sp.* ter diatomeja *Stephanodiscus hantzschii*. Razlog za vztrajno prisotnost bi lahko bil tudi, da imajo celice nekaterih fitoplanktonov podaljšane strukture, s katerimi se lahko pripnejo oziroma zapletejo v cianobakterijski cvet in lahko tako skupaj z večjimi cianobakterijskimi kolonijami vztrajajo na površju. Prednost imajo tisti fitoplanktonski organizmi, ki so sposobni aktivnega premikanja s sistemi za uravnavanje plavnosti ali s strukturami, ki omogočajo aktivno premikanje. Da razrast cianobakterij konkurira z drugimi fitoplanktonskimi organizmi, je opaziti v borbi za preživetje oziroma v borbi za svetlobo. Dinoflagelat *Ceratium sp.* ne vsebuje plinskih mehurčkov za uravnavanje svojega položaja v vodnem telesu, temveč ima biček, s katerim se lahko do neke mere premika. Pregledali smo živi vzorec površinskega cveta in opazili primerke *Ceratium sp.* (Slika 18). Tako sklepamo, da prihaja do konkurence in borbe za preživetje med samimi organizmi.

V vzorcu iz ribnika Savci smo našli tudi zanemarljivi delež diatomeje *Aulacoseira ambigua f. japonica* (Slika 23). Je invazivna vrsta z Japonske, ki se pojavlja v evtrofnih jezerih. V živem vzorcu smo zasledili tudi zooplankton *Tintinnid sp.* (Slika 24). Fitoplankton predstavlja hrano za zooplankton. Cianobakterije imajo na splošno na zooplankton škodljive učinke, zato se ta redko prehranjuje s toksičnimi sevi oziroma le toliko, da to ne škoduje njegovemu fiziološkemu stanju. Haney (1987) je dokazal, da vrste, kot so *Daphnia pulex* (vodna bolha), spodbujajo rast kolonialnih cianobakterij s selektivnim uživanjem konkurenčnega fitoplanktona.

V površinskem cvetu na različnih lokacijah je bilo ugotovljeno, da številčno prevladuje cianobakterija *Microcystis aeruginosa*, razen v vzorcu Ledavskega jezera, kjer prevladuje *Aphanizomenon flos-aquae*, ter v vzorcu Savskega ribnika, kjer prevladuje *Woronichinia naegliana* (Preglednica 3). Zaradi prevlade *Aphanizomenon flos-aquae* v Ledavskem jezeru sklepamo, da v jezeru primanjkuje dušika in so zato množično prisotne cianobakterije, ki so zmožne fiksacije atmosferskega dušika.

V primerjavi z drugimi lokacijami smo na lokacijah Savci, Boreci in Ledavsko jezero opazili veliko pestrost ostalih fitoplanktonov, in sicer zelene alge *Pediastrum duplex*, *Sphaerocystis sp.*, *Pediastrum simplex* ter *Scenedesmus sp.* Prav tako smo v nekaterih vzorcih zasledili tudi diatomejo *Stephanodiscus hantzschii*. Na podlagi rezultatov in po primerjavi z drugimi lokacijami sklepamo da je bil tukaj površinski cvet v nastajanju. V vzorcih številčno prevladujejo cianobakterije, vendar obstaja problem, ki izhaja iz spremenljivega volumna celic

fitoplanktonov. Prikaz samo s koncentracijo celic ne more odražati dejanskega stanja, saj se celice velikih vrst (dinoflagelati, zelene alge, diatomeje) nikoli ne pojavljajo tako pogosto, čeprav lahko predstavljajo večino skupne biomase. V površinskih vodah se soočamo z različnimi površinskimi cvetovi, kot so cvetenje zelenih alg, dinoflagelatov, cianobakterij. Zato smo procentualno izračunali, koliko biomase zavzema določena vrsta v naših vzorcih (Preglednica 5). Zaradi velikega volumna celice dinoflagelatov, a manjšega števila v vzorcu, je biomasa le-teh v nekaterih vzorcih primerljiva z biomaso cianobakterij.

Za različna območja so značilne različne velikosti biomase posameznih rodov cianobakterij. Tako v Preglednica 4 vidimo, da v manjših ribnikih množično prevladuje cianobakterija *Microcystis aeruginosa*. Prav tako opazimo, da je na različnih območjih različna velikost biomase cianobakterije *Aphanizomenon flos-aquae*. Ta se množično pojavlja v območju, kjer je manj dušika, saj je sposobna fiksacije dušika iz zraka. Tako je velika biomasa le-te prisotna v Ledavskem jezeru, kjer v površinskem cvetenju popolno prevladuje. Cianobakterije z možnostjo fiksacije dušika iz zraka so pomemben del ekosistema. Preprečujejo hudo pomanjkanje dušika in posledično stradanje v vseh trofičnih ravneh ekosistema poleti, vendar je človeška dejavnost desetletja uvozila presežek hranil v vodo in s tem povečala biomaso toksičnih cianobakterij.

Ob povečani biomaso cianobakterij je bila izdana ocena tveganja za celinske kopalne vode (Preglednica 9).

Preglednica 9: Ocena tveganja za pojav cianobakterij v celinskih kopalnih vodah: smerne vrednosti, tveganje za zdravje ter ukrepi (vir: NIJZ).

Smerne vrednosti za celinske vode	Tveganje za zdravje	Ukrepi
20.000 – 100.000 cianobakterijskih celic/mL ali 10 µg klorofil-a/L, če prevladujejo cianobakterije	kratkoročne posledice – draženje kože, obolenja prebavil (ob zaužitju)	informirati javnost
>100.000 cianobakterijskih celic/mL ali 50 µg klorofil-a/L, če prevladujejo cianobakterije	dolgoročne posledice zaradi nekaterih vrst cianobakterij ter kratkoročne posledice	spremljanje pojava (dnevni monitoring, dnevno štetje), odsvetovanje kopanja
prisotnost cianobakterijskega cveta	akutna zastrupitev	takojšna prepoved kopanja in drugih aktivnosti v stiku z vodo, spremljanje zdravstvenega stanja ljudi

Preiskovana območja so bila v večini primerov gramoznice, preoblikovane v ribogojnice. Na podlagi ocene tveganja, ki jo je izdal NIJZ, bi bila potrebna takojšna prepoved aktivnosti, ki potekajo v stiku z vodo. Tudi ribe, pridobljene iz takšnih voda, lahko predstavljajo grožnjo za ljudi.

Dejstvo, da razrast cianobakterij v vodnem telesu pomeni tudi veliko prisotnost biološko aktivnih snovi, ki so škodljive tako za ljudi kot tudi za druge organizme, je ustvarilo potrebo po boljši opredelitvi tega pojava.

5.3.1 Dnevno morfološko spreminjanje površinskega cvetenja na vodnem telesu

Večina cianobakterij, ki tvorijo cvet, lahko uravnava svoj vertikalni položaj v vodnem stolpcu z uravnavanjem vzgona celičnih plinov in akumulacijo balasta v obliki ogljikovih hidratov (Walsby, 1994). To omogoča, da se cianobakterije selijo gor in dol, občasno pridobivajo hranila iz večjih globin in se nato vračajo na površje kot cvet. V primernih razmerah so se cianobakterije sposobne v zelo kratkem času, že čez noč, skoncentrirati na površini. Ob obali, proti kateri pihajo vetrovi, se celice še dodatno zgoščujejo in tako oblikujejo cianobakterijske gošče. Poleg tega nastanek večjih oblik oziroma kolonij omogoča bolj učinkovito izkoriščanje svetlobe. Pojav površinskega cvetenja onemogoča drugim fitoplanktonom, ki nimajo mehanizma za uravnavanje plovnosti, tekmovanje za svetlobo.

Ugotovili smo, da se je v dopoldanskem vzorcu iz Prvencev pojavilo šest različnih vrst cianobakterij in samo tri različne vrste drugih fitoplanktonskih organizmov. V popoldanskem vzorcu se je število vrst cianobakterij v površinskem cvetu, zmanjšalo na štiri vrste. Število drugih fitoplanktonskih vrst se je povečalo iz tri na štiri različne vrste (Slika 13). Vsako cvetenje enega samega rodu ali vrste izriva vse druge in tako zmanjšuje biotsko pestrost organizmov v vodnem telesu. Cianobakterije vsebujejo plinske mehurčke, kar jim omogoča potovanje gor in dol po vodnem stolpcu. To je prednost, ki je drugi fitoplanktoni nimajo. Kopičenje velikega števila cianobakterij na površini in v vodnem stolpcu ovira prodiranje svetlobe v globino. Cianobakterije z intenzivnim razvojem odvezemajo hranilne snovi drugim planktonskim organizmom. Vse to vodi v siromašenje ekosistema ne glede na količino organske mase v vodi.

Pri pregledu vzorcev, odvzetih na ribniku v Prvencih, smo opazili različno vrstno sestavo površinskega cveta (Slika 16, Slika 17 in Slika 19). Največja pestrost cianobakterij se je pojavila v vzorcu, ki je bil vzorčen v dopoldanskem času. In največja pestrost drugih fitoplanktonov je bila v vzorcu, ki je bil vzorčen v popoldanskem času. Iz slike Slika 29 je opaziti povečano intenzivnost (gostost) površinskega cvetenja na različnih lokacijah. Močnejše cvetenje je prisotno pri ribiški hiši (lokacija 2) ter tanjše površinsko cvetenje na lokaciji 3. Iz pregleda porazdelitve površinskega cvetenja po ribniku v Prvencih smo ugotovili, da je bilo površinsko cvetenje najbolj skoncentrirano na lokaciji 2 ter najmanj na lokaciji 3. Tako smo se odločili glede posnetkov ter opazovanja cvetenja na terenu, saj je bila lokacija 1 vzorčena malo potem, ko se je vklopila črpalna naprava. Glede na prikaz rezultatov lahko sklepamo, da se je v tistem času površinsko cvetenje malo razpustilo. Lokacija 1 je bila malo stran od naprave (Slika 28). Rezultati so pokazali, da številčno prevladuje *Microcystis aeruginosa* (Slika 30). Ugotovili smo, da se je v dopoldanskem vzorcu pojavilo šest različnih vrst cianobakterij in samo tri različne vrste drugih fitoplanktonskih organizmov na lokaciji 1 in 2. Na lokaciji 3 je bilo v dopoldanskem času prisotnih 5 vrst cianobakterij in samo dve vrsti drugega fitoplanktona. V popoldanskem vzorcu se je število vrst cianobakterij v površinskem cvetu zmanjšalo na štiri vrste; število fitoplanktonskih vrst se je povečalo iz tri na štiri različne vrste (Slika 31).

Tako smo opazovali pojav površinskega cveta v dopoldanskem in popoldanskem času na ribniku v Prvencih pri Ptujju. Ugotovili smo, da se zjutraj na površini ustvari gosti površinski cvet; v popoldanskem času se ta cvet razpusti in razprši po celotnem vodnem stolpcu (Slika 44). Na sliki Slika 30 so prikazani rezultati primerjave številčne pojavnosti cianobakterij med dopoldanskim in popoldanskim časom vzorčenja površinskega cvetenja.



Slika 44: Dnevno spreminjanje morfologije površinskega cvetenja na ribniku v Prvencih. Levo je površinsko cvetenje *M. aeruginosa* v dopoldanskem času in desno je prikazan razpršeni cvet v popoldanskem času (foto: Drolc T.).

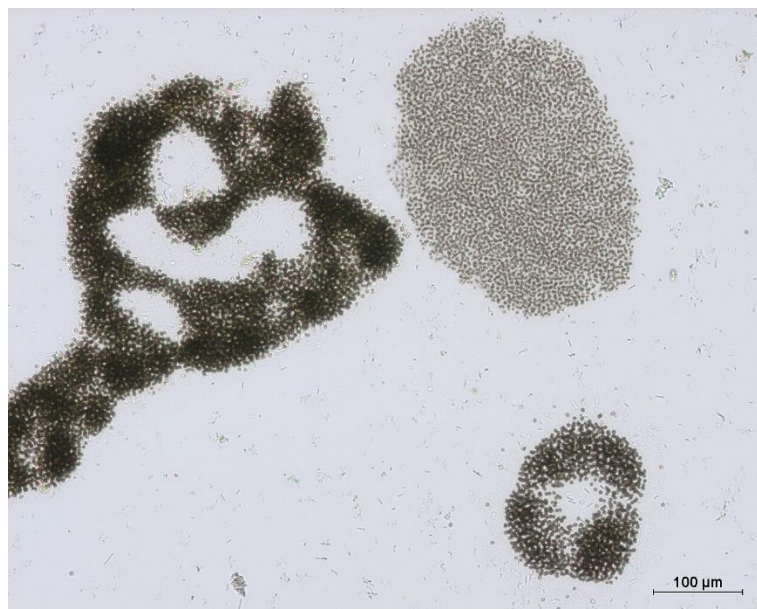
Po pregledu dopoldanskega vzorca površinskega cvetenja iz ribnika v Prvencih smo ugotovili, da je v povprečju največ cianobakterije *Microcystis aeruginosa*. Med seboj smo primerjali dve vrsti rodu *Microcystis* ter pojavnost te vrste v dopoldanskem in popoldanskem času. Primerjali smo *Microcystis aeruginosa* in *Microcystis flos-aquae*. Vrsti se med seboj razlikujeta po velikosti celic (Preglednica 5) ter po obliki kolonij. V dopoldanskem vzorcu iz ribnika Prvenci smo ugotovili, da so kolonije *Microcystis aeruginosa* velike (Preglednica 6) in zavzemajo večjo površino v vodnem telesu kot *Microcystis flos-aquae*.

Številne cianobakterijske vrste se v času rasti združujejo v kolonije krogličastih celic ali filamentov, ki niso homogeno razpršeni v vodnem stolpcu. Te cianobakterije so predvsem iz rodov *Microcystis*, *Anabaena* in *Aphanizomenon*. V odsotnosti gibanja vodnih mas ali pri zmernih vodnih tokovih take cianobakterije zaradi plovnosti, ki jim jo dajejo plinske vakuole, stalno potujejo gor in dol po vodnem stolpcu. To potovanje je v tesni povezavi s fotosintezo. V bližini vodne površine je fotosinteza intenzivna in celice kopičijo ogljikove hidrate, ki delujejo kot balast. To povzroči njihovo potopitev v globlje plasti. Ko te rezervne snovi v globljih plasteh z malo svetlobe porabijo, znova potujejo proti površju. Večje kolonije imajo večjo plovnost, zato hitreje premagujejo razdalje kot majhne kolonije. Tako se večje kolonije lahko pojavijo na površju tudi večkrat v enem dnevu. Take cianobakterije se v jutranjem času običajno pojavljajo na vodni površini kot površinski cvet, včasih celo kot površinska gošča. V popoldanskem vzorcu površinsko cvetenje ni bilo tako skoncentrirano kot v dopoldanskem času (Slika 44), ko je bilo razpršeno po vodnem telesu. Po pregledu vzorca smo ugotovili, da so bile še vedno prisotne kolonije *Microcystis aeruginosa*, vendar so bile kolonije v primerjavi z dopoldanskim vzorcem manjše (Preglednica 6). Kolonij *Microcystis flos-aquae* nismo zasledili v popoldanskem vzorcu površinskega cvetenja. Zato sklepamo, da ima vsaka vrsta cianobakterij različno pojavnost v površinskem cvetu glede na čas v dnevu.

Kot smo omenili že v uvodu, so lahko nekatere kolonije perforirane (pojavi se luknje v koloniji). Na biovolumen same kolonije ti prostori vplivajo tako, da znižujejo biovolumen; vpliva tudi razdalja med posameznimi celicami v koloniji. Tako lahko na sliki Slika 45 vidimo, da kolonije *Microcystis aeruginosa* vsebujejo več celic kot kolonije *Microcystis flos-aquae*. Večje kolonije imajo sicer večjo plovnost, saj več celic v koloniji pomeni več plinskih mehurčkov, kar daje koloniji večji vzgon in zato hitreje potujejo na površje. Tako bo tudi manjša kolonija *Microcystis aeruginosa* hitreje potovala na površje kot ena kolonija *Microcystis flos-aquae*. Prav tako je dokazano, da so večje kolonije verjetno bolj toksične kot manjše (Jungman in

sod., 1996). Ta ugotovitev vodi k predpostavki, da so toksični sevi bolj prilagojeni dejavnikom, ki vplivajo na cvetenje, saj se hitreje množijo kot netoksični sevi, kar posledično pomeni večje kolonije in hitrejša potovanja. Konkurenčna teorija napoveduje, da bodo fitoplanktonske vrste z najnižjo kritično jakostjo svetlobe v dobro mešanih vodah najboljši konkurent za svetlobo (Huisman in Weissing, 1994; Weissing in Huisman, 1994). Cianobakterije dobro uspevajo tudi pri nizkih jakostih svetlobe.

Verjetno večje kolonije cianobakterij kot imamo, večja je proizvodnja cianotoksinov. Velik ekološki pomen dan danes pripisujemo vplivu mikrocistinov na različne seve cianobakterij (tako na toksične kot tudi na netoksične cianobakterijske seve – tiste, ki mikrocistinov ne proizvajajo), saj vplivajo na njihovo delitev in biomaso (Sedmak in Kosi, 1998). Prav tako prisotnost visokih koncentracij mikrocistinov v cianobakterijskem cvetu dodatno vpliva na zmanjšanje biotske pestrosti. Cvetovi z visoko koncentracijo hepatotoksičnih cikličnih peptidov dosežejo višje celične gostote, kar se tudi ujema z vsebnostmi mikrocistinov v celicah (Sedmak in Kosi, 2002).



Slika 45: Primer perforirane kolonije *Microcystis aeruginosa* (levo ter spodaj) in kolonije *Microcystis flos-aquae* (desno zgoraj). Primer površinskega cvetenja iz Prvencev, vzorčeno v opoldanskem času (foto: Drolc T.)

Pri pregledu vzorca iz Hotinje vasi smo ugotovili, da so tam kolonije *Microcystis aeruginosa* po biovolumnu manjše od kolonij *Microcystis flos-aquae* (Preglednica 7, Slika 33). Prav tako opazimo, da je v kolonijah *Microcystis aeruginosa* več celic kot je celic v kolonijah *Microcystis flos-aquae*, čeprav so si v dopoldanskem času kolonije teh dveh vrst skoraj primerljive. Celice v kolonijah *Microcystis flos-aquae* zavzemajo večji prostor, kot ga zavzemajo celice v kolonijah *Microcystis aeruginosa*. Celice so tiste, ki dajejo koloniji plovnost zaradi plinskih mehurčkov, ki dajejo vzgon koloniji. V primeru mešanja in močnih tokov lahko velike kolonije razpadejo na manjše. Tako lahko iz preglednic Preglednica 7 in Preglednica 8 sklepamo, da je prišlo do razbitja velikih kolonij iz dopoldanskega časa in na površju vodnega telesa v popoldanskem času imamo manjše kolonije *Microcystis aeruginosa*. To pa ni enako v primeru kolonij *Microcystis flos aquae*, kjer lahko opazimo, da so kolonije v dopoldanskem času manjše od tistih v popoldanskem času. Zaradi zmanjšanja kolonij *Microcystis aeruginosa* v popoldanskem času so se lahko razvile druge vrste, v našem primeru *Microcystis flos-aquae*. Zaradi takšne regulacije ima *Microcystis aeruginosa* večjo pojavnost na površju čez dan kot *Microcystis flos-*

aquae. V popoldanskem času so v površinskem cvetu večje kolonije *Microcystis flos-aquae*. Zaradi pojavnosti večjih kolonij *Microcystis flos-aquae* lahko sklepamo, da povzročajo značilen oljni madež na površju vodnega telesa, kot je vidno na sliki Slika 46.



Slika 46: Površinsko cvetenje *M. aeruginosa* in *M. flos-aquae* na ribniku v Hotinji vasi. Posnetek je bil posnet v popoldanskem času (foto: Drolc T.).

Na cvetenje cianobakterij v vodnih telesih vpliva več dejavnikov. Eden izmed takšnih dejavnikov je tudi globalno segrevanje in s tem povišane temperature. Naraščajoče temperature dajejo prednost cianobakterijskemu cvetenju na več načinov. Kot skupina cianobakterije na splošno kažejo optimalne stopnje rasti pri relativno visokih temperaturah, običajno nad 25 °C (Robarts in Zohary, 1987). Pri tako povišanih temperaturah cianobakterije najbolj učinkovito tekmujejo z ostalimi fitoplanktonskimi organizmi, kot so zelene alge, diatomeje in dinoflagelati. Iz rezultatov je razvidno, da stopnja rasti teh organizmov upada, ko stopnja rasti cianobakterij doseže svoj optimum.

Poleg neposrednih učinkov naraščajočih temperatur na rast cianobakterij vpliva tudi segrevanje površinskih voda, saj le-to povečuje vertikalno stratifikacijo. Moč vertikalne stratifikacije je odvisna od razlike gostote voda v površinski plasti (epilimniju) in v globljih vodah (hipolimniju). Posledično naraščajoče temperature zmanjšujejo gostoto epilimnija in s tem krepijo vertikalno razslojevanje vodnih virov ekosistemov. Globalno segrevanje podaljšuje obdobje stratifikacije. Veliko jezer v zmernem pasu je nagnjeno k razslojevanju zgodaj spomladi. Stratifikacija se ohranja vse poletje; destratifikacija jezer se preloži na poznejšo jesen (De Stasio in sod., 1996; Peeters in sod., 2007). Na dodatno globalno segrevanje ozračja vplivajo tudi površinska cvetenja cianobakterij zaradi intenzivne absorpcije svetlobe. Študije dokazujejo, da površinsko cvetenje cianobakterij segreje vodo do 3 °C višje, kot je okoliška temperatura vode, kar pripomore k višjim okoliškim temperaturam ozračja (Hense, 2007).

Podnevi, ko svetloba ni dovolj močna, da bi povzročila fotoinhibicijo, na površinski vodni plasti nastaja prenasičenost s kisikom. Cianobakterije v površinski vodni plasti lahko izvajajo fotosintezo tako intenzivno, da se kisik sprošča v obliki mehurčkov na površini površinskega cvetenja (Slika 47). Tako cianobakterije na površini povzročijo dodatno plastenje vodnega telesa, ki izvira iz nasičenosti s kisikom. To je kemoklina, ki prav tako preprečuje mešanje vodnih mas in še dodatno zadržuje cianobakterije na površini.



Slika 47: Prekomerna proizvodnja kisika ob intenzivni fotosintezi cianobakterij. Lokacija Hotinja vas (foto: Drolc T.).

V nasprotju z drugimi vrstami fitoplanktona lahko nekatere cianobakterije, ki tvorijo cvet, tvorijo vakuole s plinom, ki jim omogočajo regulacijo potovanja po vodnem telesu (Walsby, 1994). V turbulentnih vodah z intenzivnim mešanjem vetra vzgon ne daje veliko prednosti, saj bo vertikalno mešanje cianobakterije porazdeljeno po celotnem vodnem stolpcu. A ko se temperature zvišajo in je malo mešanja zaradi vetra, vodni stolpec stagnira in plavajoče cianobakterije potujejo navzgor po vodnem telesu. To vodi do kopičenja cveta na površini vodnega telesa. Kopičenje velikega števila celic lahko vodi do zelo visoke koncentracije toksinov. Posledično so koncentracije cianotoksinov v gostih površinskih cvetovih nekajkrat višje od koncentracij toksinov v okoliških vodah.

5.4 Fotosintezna dejavnost cianobakterij

Razmere v cianobakterijskem cvetu so v prid cianobakterijam. Cianobakterije so sposobne izkoriščati nižje intenzitete svetlobe kot drugi fitoplanktonski organizmi. To dosežejo s pomočjo fikobilisomov in povečanjem vsebnosti klorofila na celico (Herzig in Dubinsky, 1992). Fikobilisomi, agregati fikobiliproteinov, so vezani na zunanjo stran tilakoidne membrane. Fikobilisomi zbirajo svetlobo in jo s skoraj 100 % izkoristkom prenesejo na fotosintezna reakcijska centra FS I in FS II. Fikobilisomi cianobakterij vsebujejo različne pigmente, kar je odvisno od vrste oziroma rodu cianobakterij. *Microcystis aeruginosa* vsebuje alofikocianin in fikocianin (Raps in sod., 1983). Ti pigmenti, dajejo barvo celicam. Ob prevladi fikoeritrina so cianobakterije obarvane rdeče (npr. *Planktothrix rubescens*); predvsem prevladujejo cianobakterije modrozeleno barve rodov *Microcystis sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Anambaena sp.* Študije, opravljene na različnih vrstah cianobakterij, dokazujejo, da je večina cianobakterij v celinskih vodah izredno občutljiva na visoke intenzitete svetlobe. Cianobakterije lahko uravnavajo tvorbo pigmentov in tako kar najbolje izkoristijo razpoložljivo svetlobo (Raps in sod., 1983). Prisotnost različnih pigmentov cianobakterijam omogoča učinkovito izrabo svetlobnega spektra, ki ga ostali avtotrofi ne morejo. Na vsebnost fotosinteznih pigmentov vplivajo tudi cianotoksini, in sicer mikrocistini; ti prav tako povečajo hitrost rasti in biovolumna celic, inducirajo združevanje celic in kolonij (Sedmak in Eleršek, 2005).

Del energije, ujete v sistemu zbiralcev svetlobne energije, se sprošča kot fluorescenca. Ob osvetlitvi vsi fototrofi oddajajo fluorescenco različnih valovnih dolžin, kar je odvisno od pigmentov, ki jih vsebujejo. Z zaznavanjem različnih fluorescenc s pomočjo filtrov, ki prepuščajo samo določene valovne dolžine svetlobe, lahko ugotovimo, kateri pigmenti so prisotni v celicah. Tako lahko relativno preprosto ločimo zelene alge od cianobakterij. Vzorci so bili pregledani pod filtrom B-2A; na sliki Slika 34 tako ni opaziti zelene alge *Pediastrum sp.* S pomočjo fluorescence ločimo tudi ozadje od celic cianobakterij (Slika 35).

Ko celico fiksiramo, jo izpostavimo stresu, zaradi česar fiksirane celice fluorescirajo močnejše, saj je pri njih onemogočen prenos energije v naslednjih korakih. Na sliki Slika 36 je prikazana cianobakterija *Microcystis aeruginosa*. Opazimo, da pri enakem času izpostavljenosti svetlobe (250 ms) levi vzorec (živi vzorec) odda manj fluorescence kot desni vzorec (fiksiran vzorec).

Po izpostavitvi vzorca z belo svetlobo mikroskopa (čas 167 ms) pod filtrom B-2A lahko na sliki Slika 37 vidimo, da različne vrste cianobakterij fluorescirajo različno pri enakem času osvetlitve. Vidimo, da kolonije, kjer so celice tesneje skupaj, zaradi odbijanja svetlobe med celicami fluorescirajo močnejše kot tiste v starejših (perforiranih) kolonijah, kjer so celice bolj narazen. Na sliki Slika 38 lahko enako potrdimo glede bližine celic. Kjer so celice *Aphanizomenon flos-aquae* bližje, je oddana fluorescenca močnejša kot tam, kjer so celice bolj oddaljene. Prav tako na sliki vidimo, da *Woronichinia naegliana* ter *Microcystis viridis* oddajata več fluorescence kot *Aphanizomenon flos-aquae*.

Ker so izpostavljene večji intenziteti sončne svetlobe, cianobakterije v dopoldanskem času oddajajo več fluorescence kot tiste v popoldanskem času. Kot potrditev smo primerjali živa vzorca *Microcystis aeruginosa* iz površinskega cveta v dopoldanskem času ter v popoldanskem času. Oba vzorca smo izpostavili enakemu času z belo svetlobo in po določenem času (83 ms ter 167 ms) osvetlitve zaznavali fluorescenco, prepuščeno skozi filter B-2A. Pri primerjavi levega in desnega stolpca opazimo majhno razliko v intenziteti oddane fluorescence (Slika 39). *Microcystis aeruginosa* v dopoldanskem času oddaja več fluorescence kot v popoldanskem času. Ta razlika je zelo majhna. Verjetno zato, ker je bil vzorec vzorčen v jesenskem času in sta bila dnevni čas in temperaturno območje manjša.

V literaturi zasledimo, da se fiksirane vzorce lahko hrani v hladilniku pri 4-10 °C do največ 6 mesecev (Metodologija..., 2016). Kako to vpliva na fluorescenco fiksiranega vzorca, smo testirali tako, da smo vzorec tedensko preverjali. Primerjali smo obstojnost fluorescence v fiksiranem vzorcu površinskega cvetenja iz ribnika v Prvencih (Slika 40). Opazili smo, da je bila fluorescenca v prvem dnevu po fiksaciji vzorca s formaldehidom vidno močnejša kot v prvem tednu in nato v drugem tednu po fiksaciji. Fluorescenci iz prvega tedna ter iz drugega tedna sta bili vidno primerljivi. V kratkem času smo opazili, da ta čas bistveno ne vpliva na intenziteto fluoresciranja vzorca.

Fluorescenca *in vivo* vzorcev nam prikazuje realno stanje površinskega cvetenja. Opazimo, da oddaja bistveno manj fluorescence kot fiksirani vzorci. Živi vzorci nam prikazujejo zdravi fitoplankton. Fiksirani površinski cvet bi lahko ponazarjal stanje, ko celice odmirajo, in je zato pokazatelj fotoinhibicije ali v skrajnem primeru propadanja površinskega cvetenja, saj takrat pride do porušitve sistemov prenosa energije v celici in ta ni več zmožna pretvarjati svetlobe.

Omejeno število primerov, predstavljenih tukaj, o možni izvedbi fluorescenčne mikroskopske spektroskopije lahko znatno poveča učinkovitost rutinskih postopkov pri spremljanju okolja.

6 SKLEP

Cvetenje toksičnih cianobakterij v vodnih ekosistemih predstavlja zaradi zniževanja biodiverzitete nevarnost za zdravje živali, človeka in celotnega ekosistema. Zato je napovedovanje površinskega cvetenja pomemben cilj stalnega spremljanja in preprečevanja cvetenja cianobakterij.

V prvi hipotezi smo predpostavili, da bo prevlada cianobakterij v samem cvetu izpodrinila druge fitoplanktonske vrste. V drugi hipotezi pa smo predpostavili, da bodo različna obdobja dneva vplivala na zunanji izgled in morfološko ter vrstno sestavo površinskih cvetenj. Hipotezi potrjujemo, saj smo ugotovili, da je v jutranjem času, ko se ustvari površinsko cvetenje v površinskem cvetu prisotnih manj drugih organizmov. Tako so v vzorcu iz ribnika v Hotinji vasi številčno in masovno prevladovale cianobakterije in ni bilo zaslediti drugi vrst fitoplanktona. Z meritvami na terenu smo ugotovili, da je cianobakterijsko cvetenje nevarnejše za ljudi in živali v zgodnjih jutranjih urah, ko se na površju vodnih teles ustvari površinsko cvetenje v obliki gošč, kjer je koncentracija in številčnost toksičnih cianobakterij višja kot v popoldanskem času. Globalno segrevanje, h kateremu pripomore tudi površinsko cvetenje cianobakterij, podaljšuje čas ter obdobje cvetenja cianobakterij. S tem vpliva na prisotnost drugih vrst fitoplanktona, ki jih lahko cianobakterije dolgoročno izrinejo iz površine ter nato iz vodnega telesa, ker jim razrast cianobakterij na površju otežuje razmnoževanje.

V Sloveniji samo monitoring kopalnih voda, vključuje nadzor in analize cianobakterij, vendar pa se ljudje kopamo tudi na lokacijah, kjer ni uradno določenih kopalnih voda, kot so to gramoznice in vodna zajetja. Uvedba novih metod je za spremljanje površinskega cvetenja cianobakterij nujna zaradi vse večjega vpliva človekove dejavnosti na okolje. Metode, ki se danes še vedno zdijo preveč zapletene in drage, postajajo dostopne ter so bistveno cenejše od dela strokovnjakov v laboratorijih, ki je zamudno in tudi zato dobimo rezultate toliko pozneje, da mnogokrat niso več aktualni. Nove metode odražajo rastoče zavedanje o zapletenosti procesov v naravi. Uvedba in vrednotenje inovativnih metod sta potrebna in lahko zagotovita dodano vrednost za tradicionalne metode spremljanja površinskega cvetenja cianobakterij, kar omogoča bistveno izboljšanje kakovosti raziskav. Tehnologija daljinskega zaznavanja iz zraka lahko zagotovi natančnejše, bolj prilagodljive, cenejše in hitrejše metode za odkrivanje in napovedovanje evtrofikacije in posledičnega površinskega cvetenja cianobakterij. Inovativna zračna metoda, kot je spremljanje cvetenja s pomočjo brezpilotnega letala in multispektralne kamere, se odlikuje s stalnim spremljanjem in večnamenskostjo multispektralne kamere, ki se široko uporablja ne le za različna zračna vozila s posadko ali brez posadke, temveč tudi v laboratoriju in zagotavlja boljše, pogostejše in natančnejše odkrivanje v primerjavi z drugimi raziskavami. Multispektralne kamere vključujejo odbito svetlobo ter tudi oddano svetlobo – energijo (fluorescenca, toplota...) različnih valovnih dolžin. Tako lahko odraz stanja površinskega cvetenja preverjamo na podlagi oddane fluorescence. S tem lahko dokažemo, da so v vodnem telesu prisotne cianobakterije ter v kakšnem fiziološkem stanju so, med drugim ali gre za nastanek ali propad cveta (glede na oddano fluorescenco).

Uporaba novih metod (nadzor z brezpilotnim letalom) in njihovo nadaljnje preverjanje s primerjavo rezultatov z različnimi metodami je zelo priporočljivo, da se omogoči stalno spremljanje in uvede sistem zgodnjega opozarjanja na pojav cvetenja fitoplanktona.

7 POVZETEK

Cianobakterije so ena najstarejših življenjskih oblik na Zemlji in so tudi najzaslužnejše za nastanek življenja, kot ga poznamo danes. So izredno raznolike, tako morfološko kot tudi fiziološko. Cianobakterije so del fitoplanktona in naseljujejo morski ter sladkovodni ekosistem. Zaradi povečanega vnosa hranil v vodni ekosistem, se cianobakterije na površini vodnega telesa tako namnožijo, da prevladajo v vodnem telesu, ter s časoma izpodrinejo druge vrste fitoplanktona. Takšnemu množičnemu pojavu na površini vode pravimo cvetenje. Cvetenje cianobakterij predstavlja izjemno tveganje za okolje, tako za ekosisteme kot tudi za organizme, živali in ljudi. Cianobakterije proizvajajo biološko aktivne snovi, ki se v fazi rasti stalno sproščajo v vodno telo. V času odmiranja se le-ti masovno sprostijo. Ogromne količine odmrle organske mase v procesu razgradnje odvzemajo v vodi raztopljen kisik, zaradi česar pride do pomanjkanja kisika, sproščajo se toksični metaboliti, kar vodi v zniževanje biodiverzitete in ogroženja zdravja vseh, ki prihajajo v stik s takšnim vodnim telesom.

V Sloveniji monitoringi za površinske vode ne vključujejo monitoringa cianobakterij in njihovih toksinov. Kopalna direktiva, ki narekuje izvajanje monitoringa kopalnih vod jih sicer vključuje, vendar ne zajema neuradnih kopališč, oziroma tako imenovanih kopališč na črno in drugih vodnih zajetij, ki jih ljudje uporabljajo v rekreativne namene. V sklopu magistrske naloge smo obiskali nekaj vodnih zajetih, ki so bila preoblikovana v ribnike. Opazili smo, da so bila površinska cvetenja različna tako po izgledu, kot tudi po vrsti cianobakterij. Opazovanje površinskega cvetenja smo opravili s pomočjo brezpilotnega letala, da smo vidili kako se sam cvet razprostira po vodnem telesu. Ugotovili smo, da masovna namnožitev cianobakterij na površini izpodriva druge organizme tako, da v prizadetem vodnem telesu v skrajnem primeru ni več prisotnih drugih organizmov fitoplanktona. Prav tako smo ugotovili, da različna obdobja dneva vplivajo na zunanji izgled in morfološko ter vrstno sestavo površinskih cvetenj.

8 SUMMARY

Cyanobacteria are one of the oldest living forms on Earth and are responsible for life as we know it today. They are extremely diverse, both morphologically and physiologically. Cyanobacteria are part of phytoplankton in the marine and freshwater ecosystems. Due to the increased nutrient uptake in the aquatic ecosystem, cyanobacteria multiply on the surface of the water to prevail in the water body, displacing other phytoplankton over time. Such a massive phenomenon on surface waters is called harmful blooming. The surface bloom of cyanobacteria poses a risk to the environment, both for ecosystems and for the organisms, for animals and humans. Cyanobacteria produce biologically active substances which are continuously released into water during the growth phase. At the time of dying, they are massively released. Huge amounts of dead organic mass, in the process of decomposition, take dissolved oxygen in the water leading to a lack of oxygen, and releasing toxic metabolites. All this leads to decrease in biodiversity and in the health risks of all who come into contact with such a body of water.

In Slovenia monitoring of surface waters does not include monitoring of cyanobacteria and their toxins. The bathing directive which dictates the exercise of bathing water control, includes them, but does not include unofficial (wild) bathing sites and other water bodies used by people for recreational purposes. In our master's thesis we decided to visit some of the water bodies which were transformed into ponds. We noticed surface flowering was different both in appearance and in the type of cyanobacteria. Surveying of surface flowering was done using a drone to see how the flowering itself spreads across the body of water. We discovered that

massive multiplication of cyanobacteria on the surface displaces other organisms and in extreme cases eradicates other phytoplankton organisms. We also discovered that different times of a day had an impact on the external appearance and on the morphological and species composition of the surface flowering.

9 REFERENCE

- Agencija Republike Slovenije za okolje (2018): Kakovost kopalnih voda v Sloveniji: <http://www.arso.gov.si/vode/kopalne%20vode/poro%C4%8Dila%20in%20%C4%8Dlanki/KV%202017%20splet.pdf> (08.09.2019)
- Agrisera: <https://www.agrisera.com/en/artiklar/plantalgal-cell-biology/photosynthesis-/index.html> (08. 01. 2019)
- Bracher A., Hardman-Mountford N., Hirata T., Bernard S., Boss E., Brewin R., Bricaud A., Brotas V., Chase A., Ciotti A., Choi J.K., Clementson L., Devred E., DiGiacomo P., Dupouy C., Hirawake T., Kim W., Kostadinov T., Kwiatkowska E., Lavender S., Moisan T., Mouw C., Son S., Sosik H., Uitz J., Werdell J., Zheng G. (2014): Phytoplankton Composition from space: towards a validation strategy for satellite algorithms. Report on International Ocean-Colour Coordinating Group, USA, 44 str.
- Castenholz R.W., Garcia-Pichel F. (2000): Cyanobacterial responses to UV radiation v The Ecology of Cyanobacteria (edited by Whitton B.A. and Potts M.). Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 591-611
- Ciglič R., Geršič M., Perko D., Zorn M. (2018): Pokrajina v visoki ločljivosti. Ljubljana, Založba ZRC, 200 str.
- De Stasio B.T. Jr., Hill D.K., Kleinhans J.M., Nibbelink N.P., Magnuson J.J. (1996): Potential effects of global climate change on small north-temperate lakes: physics, fish and plankton. *Limnology and Oceanography*, 41, 1136-1149
- Ding Yi, Song L., Sedmak B. (2013): UVB Radiation as a Potential Selective Factor Favoring Microcystin Producing Bloom Forming Cyanobacteria. *PLoS ONE* 8 (9), 1-11
- Eleršek T. (2014): Potencialno toksične cianobakterije v celinskih vodah Slovenije. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo, 80 str.
- Falkowski P.G., Katz M.E., Knoll A.H., Quigg A., Raven J.A., Schofield O., Taylor F.J.R. (2004): The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science*, 305, 354-359
- Ganf G.G., Oliver R. L. (1982): Vertical separation of light and available nutrients as a factor causing replacement of green algae by blue-green algae in the plankton of stratified lake. *Ecology*, 70, 829-844
- George D.G., Edward R.W. (1976): The effect of wind on the distribution of chlorophyll a and crustacean plankton in a shallow eutrophic reservoir. *Journal of Applied Ecology*., 13, 667-690
- Glazer A.N. (1984): Phycobilisome: a macromolecular complex optimized for light energy transfer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 768, 29-51
- Green B.R. (2001): Was "molecular opportunism" a factor in the evolution of different photosynthetic light-harvesting pigment systems?. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 2119-2121
- Haney J.F. (1987): Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21 (3), 467-475

- Harrington J.A. Jr., Schiebe F.R., Nix J. F. (1992): Remote sensing of Lake Chicot, Arkansas: Monitoring suspended sediments, turbidity, and Secchi depth with Landsat MSS data. *Remote sensing of Environment*, 39, 15-27
- Hense I. (2007): Regulative feedback mechanisms in cyanobacteria-driven systems: a model study. *Marine Ecology Progress Series*, 339, 41-47
- Herzig R, Dubinsky Z. (1992): Photoacclimation, photosynthesis and growth in phytoplankton. *Israel Journal of Botany*, 41 (4-6), 199-212
- Huisman J., Weissing F.J. (1994): Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology*, 75, 507-520
- Huisman J., Sharples J., Stroom J.M., Visser P.M., Kardinaal W.E.A., Verspagen J.M.H., Sommeijer B. (2004): Changes in turbulent mixing shift competition for light between phytoplankton species. *Ecology*, 85, 2960-2970
- Huisman J., Codd G.A., Paerl H.W., Ibelings B.W., Verspagen J.M.H., Visser P.M. (2018): Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 471-483
- Hutchinson G.E. (1957): *A treatise on Limnology. Vol. 1, Geology, Physics and Chemistry.* USA, New York, Wiley, 672 str.
- Ibelings B.W., Mur L.R. (1992): Microprofiles of photosynthesis and oxygen concentration in *Microcystis* sp. scum. *FEMS Microbiology Ecology*, 86 (3), 195-203
- Ibelings B.W., Vonk M., Los H.F.J., van der Molen D.T., Mooij W.M. (2003): Fuzzy modeling of cyanobacterial surface waterblooms: validation with NOAA-AVHRR satellite images. *Ecological Applications*, 13 (5), 1456-1472
- Joseph A. (2017): *Magic With Colors – Sea Surface Changes v Investigating Seafloors and Oceans.* National Institute of Oceanography, India, 555-574
- Jöhnk K.D., Huisman J., Sharples J., Sommeijer B., Visser P.M., Stroom J.M. (2008): Summer heat waves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*, 14, 495-512
- Jungman D., Ludwichowski K., Faltin V., Benndorf J. (1996): A field study to investigate environmental factors that could effect microcystins synthesis of a *Microcystis* population in the Bautzen reservoir. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 81 (4), 493-501
- Kahru M., Leppänen J., Rud O. (1993): Cyanobacterial blooms cause heating of the sea surface. *Marine Ecology Progress Series*, 101, 1-7
- Keating K. I. (1977): Allelopathic influence on blue-green bloom sequence in a eutrophic lake. *Science*, 196 (4292), 885-887
- Knoll A.H. (2008): Cyanobacteria and earth history v *The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution* (edited by Herrero A. and Flores E.). Caister Academic Press, Norfolk, 1-19
- Krompkamp J., Walsby A.E. (1990): A computer model of buoyancy and vertical migration in cyanobacteria. *Journal of Plankton Research*, 12, 161-183

- Kubiak K.A., Kotlarz J., Mazur A.M. (2016): Monitoring cyanobacteria blooms in freshwater lakes using remote sensing methods. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25 (1), 27-35
- Kurland L.T. (1988): Amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease complex on Guam linked to environmental neurotoxins. *Trend Neurosci*, 11, 51-54
- Kuwata A., Miyazaki T. (2000): Effects of ammonium supply rates on competition between *Microcystis novaeckii* (Cyanobacteria) and *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta): simulation study. *Ecological Modeling*, 135, 81-87
- Lawton L., Marsalek B., Padisák J., Chorus I. (1999): Chapter 12: Determination of cyanobacteria in the laboratory v Toxic Cyanobacteria v Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management (edited by Chorus I. and Bartram J.). World Health Organisation. F & FN Spon, 334-361.
- Leshkevich G., Shuchman R.A., Sayers M.J. (2012): An operational algorithm to retrieve chlorophyll, DOC, and suspended minerals from satellite data of the Great Lakes. Proceedings, European Space Agency 3rd MERIS/Sentinel-3 symposia, Frascati, Italy, 15-19
- Lukas W.J., Berry J.A. (1985): Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms. *Physiologia Plantarum*, 65, 539-543
- Lund J.W.G, Kipling C., Le Cren E.D. (1958): The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia*, 11, 143-170
- Metodologija ekološkega stanja jezer na podlagi fitoplanktona (2016). Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor, 26 str.
- Mimuro M., Tomo T., Tsuchiya T. (2008): Two unique cyanobacteria lead to a traceable approach of the first appearance of oxygenic photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 97, 167-176
- Mur L.R. (1998): Some aspects of the ecophysiology cyanobacteria. *Anales de Microbiologie*, 134 (1), 61-72
- Mur L.R., Schreurs H. (1995): Light as a selective factor in the distribution of phytoplankton species. *Water Science and Technology*, 32 (4), 25-34
- NASA, EarthData: MODIS-Aqua: <https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/data/aqua> (01. 05. 2019)
- NASA (2009): Satellite detects red glow to map global ocean plant health: https://www.nasa.gov/topics/earth/features/modis_fluorescence.html (01. 05. 2019)
- NIJZ; Priporočila o varnosti kopanja s smernimi vrednostmi zaradi prepovedi ali odsvetovanja kopanja na naravnih kopališčih oziroma kopalnih območjih: https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/priporocila_o_varnosti_kopanja_naravna_kopalisca.pdf (17. 06. 2019)
- Olenina I., Hajdu S., Edler L., Andersson A., Wasmund N., Busch S., Göbel J., Gromiaz S., Huseby S., Huttunen M., Jaanus A., Kokkonen P., Ledaine I., Neimkiewicz E. (2006):

Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. HELCOM Baltic Sea Environment Proceedings, No. 106, 144 str.

Oštir K., (2006): Daljinsko zaznavanje. Ljubljana, Založba ZRC, 250 str.

Paerl H.W. (1988): Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (Cyanobacteria) in Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton (edited by Sandgren C.D.). Cambridge University Press, 261-315

Paerl H.W., Tucker J., Bland P.T. (1983): Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algae (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. Limnology and Oceanography, 8, 847-857

Palaeos, Life through deep time: <http://palaeos.com/eukarya/glossary/glossaryP.html> (08. 01. 2019)

Peeters F., Straile D., Lorke A. (2007): Earlier onset of the spring phytoplankton bloom in lakes of the temperate zone in a warmer climate. Global Change Biology, 13 (9), 1898-1909

Raps S., Wyman K., Siegelman W.H. Falkowski P.G. (1983): Adaptation of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to light intensity. Plant Physiology, 72, 829-832

Reynolds C.S. (1980): Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems. Holarctic Ecology, 3, 141-159

Reynolds C.S. (2006): The Ecology of Phytoplankton (Ecology, Biodiversity and Conservation). Cambridge, UK: Cambridge University Press, 552 str.

Reynolds C.S., Walsby A.E. (1975): Water-blooms. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society, 50, 437-481

Robarts R.D., Zohary T. (1987): Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom forming cyanobacteria. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 21, 391-399

Schagerl M., Unterrieder I., Angeler D.G. (2002): Allelopathy among Cyanoprokaryota and other algae originating from lake Neusiedlersee (Austria). International Review of Hydrobiology, 87 (4), 365-374

Shapiro J. (1990): Current beliefs regarding dominance by blue greens: The case for importance of CO₂ and pH. Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie, 24, 38-54

Sedmak B. (2011): Cianobakterije in njihovi toksini: Kdo so, kje jih najdemo in kako delujejo?. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo, 93 str.

Sedmak B., Eleršek T. (2005): Microcystins Induce Morphological and Physiological Changes in Selected Representative Phytoplanktons. Microbial Ecology, 50 (2), 298-305

Sedmak B., Kosi G. (1997): Microcystins in Slovene freshwaters (Central Europe) – first report. Natural toxins, 5, 64-73

- Sedmak B., Kosi G. (1998): The role of microcystins in heavy cyanobacterial bloom formation. *Journal of Plankton Research*, 20 (4), 691-708.
- Sedmak B., Kosi G. (2002): Harmful cyanobacterial blooms in Slovenia – Bloom types and microcystin producers. Ljubljana, *Acta Biologica Slovenica*, 45 (1), 17-30
- Sedmak B., Eleršek T., Grach-Pogrebinsky O., Carmeli S. (2008): Ecotoxicologically relevant cyclic peptides from cyanobacterial bloom (*Planktothrix rubescens*) – a threat to human and environmental health. *Radiology and oncology*, 42 (2), 102-113
- Sedmak B., Sukenik A., Eleršek T., Kosi G. (2009^a): Chapter 11: The Biological Role of Cyclic Hepatotoxic and Non-Hepatotoxic Cyano peptides and its Ecological Consequences v *Ecotoxicology Research Developments* (edited by Eduardo B. Santos). Nova Science Publishers, 269-300
- Sedmak B., Carmeli S., Pompe-Novak M., Frangež R. (2009^b): Cyanobacterial cytoskeleton immunostaining: the detection of cyanobacterial cell lysis induced by planktopeptin BL1125. *Journal of Plankton Research*, 31 (11), 1321-1330
- Sun L., Wang S., Zhao M., Fu X., Gong X., Chen M., Wang L. (2009): Chapter 3: Phycobilisomes from cyanobacteria v *Handbook on Cyanobacteria: Biochemistry, Biotechnology and Applications* (edited by Gault P.M. and Marler H.J.). Bacteriology Research Development Series, Nova Science Publishers, New York, 105-160
- Tellidis I., Levin E. (2014): Photogrammetric Image Acquisition with Small Unmanned Aerial Systems. *ASPRS 2014 Annual Conference, Kentucky*, 12 str.
- Voet D., Voet J.G. (2011): *Biochemistry*, 4th edition. John Wiley and Sons, 1520 str.
- Walsby A.E. (1994): Gas vesicles. *Microbiology Reviews*, 58, 94-144
- Webster I.T., Hutchinson P.A. (1994): Effect of wind on the distribution of phytoplankton cells in lakes revisited. *Limnology and Oceanography*, 39, 365-373
- Weissing F.J., Huisman J. (1994): Growth and competition in a light gradient. *Journal of Theoretical Biology*, 168, 323-336
- Wells M.L., Trainer V.L., Smayda T.J., Karlson B.S.O., Trick C.G., Kudela R.M., Ishikawa A., Bernard S., Wulff A., Anderson D.M., Cochlan W.P. (2015): Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful Algae*, 49, 68-93
- Wetzel R.G. (1975): *Limnology*. W.B. Saunders Company, 860 str.
- Yamazaki H., Kamykowski D. (1991): The vertical trajectories of motile phytoplankton in a wind-mixed water column. *Deep sea research, Part A: Oceanographic Research Papers*, 38 (2), 219-241
- Zilinskas B.A. (1986): Phycobilisome structure and function. *Photosynthesis Research*, 10, 7-35

9.1 Taksonomski ključi

Bellinger E.G. (2015): Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators. Second edition. West Sussex, John Wiley & Sons, 285 str.

Eleršek T. (2014): Potencialno toksične cianobakterije v celinskih vodah Slovenije. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo, 80 str.

Hindák F. (2008): Colour Atlas of Cyanophytes. Bratislava, VEDA, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences, 253 str.

Joosten A.M.T. (2006): Flora of the blue-green algae of the Netherlands. The non-filamentous species of inland waters. Utrecht, KNNV Publishing, 239 str.

Vrhovšek D. (1985): Sladkovodne alge: ali jih poznamo?. Ljubljana, Državna založba Slovenije, 117 str.

Vrhovšek D., Kosi G. (1982): Priročnik za določanje splošno razširjenih sladkovodnih alg v Sloveniji. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, 58 str.


10 Priloge

Priloga 1: Dovoljenje za nadzor brezpilotnega letala

AGENCIJA ZA CIVILNO LETALSTVO **CAA** 
 CIVIL AVIATION AGENCY, SLOVENIA

IZJAVA		
V skladu z Uredbo o sistemih brezpilotnih zrakoplovov		
Operater PROF. DR. ROJAN SEDMAK		
Ime (pravne ali fizične osebe): Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana		
Kraj in naslov, kjer ima operater sedež ali poslovni naslov Ljubljana, večna pot 111		
Kraj in naslov opravljanja storitev (če je drugačen kot zgoraj navedeni) Slovenija, površinska vodna telesa in priobalne vode (morje)		
Ime in kontaktni podatki odgovornega vodje <i>Opomba: oseba pooblaščenca za zastopanje, npr. direktor ali s strani direktorja pooblaščenca oseba. Pooblastilo je potrebno priložiti izjavi.</i>		
Ime in priimek odgovornega vodje	Elektronska pošta	Mobilni telefon
Prof.dr. Matjaž Kuntner	matjaz.kuntner@nib.si	+386 (0)40 641 033
Letalske dejavnosti		
Datum začetka izvajanja letalskih dejavnosti:		avgust 2018
ali datum začetka veljavnosti sprememb:		
ali podaljšanje potrdil/dovoljenja (označi):		<input type="checkbox"/>
Kategorija izvajanja letalskih dejavnosti (najvišja med tipi naštetimi spodaj)		
<input checked="" type="checkbox"/> A	<input type="checkbox"/> B	<input type="checkbox"/> C
<input type="checkbox"/> D		
Tip sistema(-ov) brezpilotnih zrakoplovov (proizvajalec, model, število motorjev, padalo)	identifikacijske oznake	kategorija
DJI - Phantom 4 Pro	NIB-Phantom4	
Glavna baza: Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana		
Izjave (obvezno označi relevantne izjave)		
<input checked="" type="checkbox"/>	Vsi poleti se bodo izvajali v skladu z določbami Uredbe o sistemih brezpilotnih zrakoplovov in z drugimi veljavnimi predpisi	
<input type="checkbox"/>	Operativni priročnik je usklajen z veljavnimi zahtevami, predpisanimi z Uredbo o sistemih brezpilotnih zrakoplovov <i>Opomba: Samo za izvajanje letalskih dejavnosti kategorij C in D</i>	
<input type="checkbox"/>	Vsi poleti bodo opravljeni v skladu s postopki in navodili operativnega priročnika <i>Opomba: Samo za izvajanje letalskih dejavnosti kategorij C in D</i>	
<input checked="" type="checkbox"/>	Sistem brezpilotnega zrakoplova, s katerim se izvajajo letalske dejavnosti, izpolnjuje tehnične zahteve iz Priloge 4 k Uredbi o sistemih brezpilotnih zrakoplovov	
<input checked="" type="checkbox"/>	Sistem brezpilotnega zrakoplova bo upravljala oseba, ki izpolnjuje pogoje, predpisane z Uredbo o sistemih brezpilotnih zrakoplovov	
<input checked="" type="checkbox"/>	Operater bo Agencijo za civilno letalstvo obveščal o vsaki spremembi, ki bi vplivala na podatke te izjave	
<input checked="" type="checkbox"/>	Operater jamči za pravilnost podatkov v tej izjavi	
Datum	ime in priimek odgovornega vodje	podpis
21.06. 2018	Prof.dr. Matjaž Kuntner	



AGENCIJA ZA CIVILNO LETALSTVO CAA 

Vloga

V skladu z Uredbo o sistemih brezpilotnih zrakoplovov (Uradni list RS, št. 52/16 in 81/16-popr) (Uredba) in sprejemljivimi načini usklajevanja (SNU) za odstopanje od pravil letenja:

Izdaja dovoljenja za nočno letenje brezpilotnih zrakoplovov pri izvajanju letalske dejavnosti v skladu z členom 11 (2)(a) Uredbe za:

Tip sistema UAV	Kategorija	Tip sistema UAV	Kategorija
1. DJI Phantom 4 Pro	5	2.	
3.		4.	
5.		6.	

Izdaja dovoljenja za odstopanje od minimalnih oddaljenosti 150 m od skupine ljudi v skladu s členom 11(2)(f) Uredbe pri izvajanju letalske dejavnosti v pogojih dnevnega letenja z brezpilotnimi zrakoplovi za:

Tip sistema UAV	Kategorija	Tip sistema UAV	Kategorija
1.		2.	
3.		4.	
5.		6.	

Izdaja dovoljenja za odstopanje od minimalnih oddaljenosti 30 m od ovir določenih v členu 11(2)(a) Uredbe pri izvajanju letalske dejavnosti v pogojih dnevnega letenja z brezpilotnimi zrakoplovi za:


Tip sistema UAV	Kategorija	Tip sistema UAV	Kategorija
1.		2.	
3.		4.	
5.		6.	

*Označi samo relevantno vlogo. Navedi samo tipe brezpilotnih zrakoplovov (UAV) iz predhodno oddane izjave/ vloge operaterja, kateri so predmet te vloge in pripadajočo kategorijo izvajanja letalskih dejavnosti za posamezen tip UAV.

Operator
Ime: Prof.dr. Bojan Sedmak
Kraj in naslov, kjer ima operater sedež ali poslovni naslov
Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana
Kraj in naslov opravljanja storitev (če je drugačen kot zgoraj navedeni)

Ime in kontaktni podatki odgovornega vodje
*oseba pooblaščenca za zastopanje, npr. direktor ali s strani direktorja pooblaščenca oseba.
Pooblastilo je potrebno priložiti izjavi.
Ime in priimek odgovornega vodje: Prof.dr. Matjaž Kuntner | elektronska pošta: matjaz.kuntner@nih.si | Mobilni telefon: 040 641 033


Izjava (obvezno označi)¹
Zgoraj označeno odstopanje od pravil letenja bomo izvajali v skladu z zahtevami, določenimi v Sprejemljivih načinih usklajevanja (SNU) in navodilih (NA) k Uredbi o sistemih brezpilotnih zrakoplovov (Uradni list RS, št. 17/17) in relevantnimi prilogami za predmetno odstopanje od pravil letenja.

Datum	Ime in priimek odgovornega vodje	podpis
	prof.dr. Matjaž Kuntner	

¹ Operater izjavlja pod materialno in kazensko odgovornostjo, da so navedene izjave točne in resnične ter sprejema vse morebitne posledice, ki bi nastale z morebitnimi neresničnimi izjavami.

NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO

PREJETO	- 7 - 08 - 2018
ŠTEVILKA	OPOMBE
144	VZ.

AGENCIJA ZA CIVILNO LETALSTVO CAA 

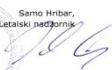
Številka: 37241-175/2018/4
Datum: 06.08.2018

Javna agencija za civilno letalstvo Republike Slovenije, Kotnikova ulica 19a, SI - 1000 Ljubljana, v nadaljevanju Agencija, izdaja na podlagi 2. odstavka 166. člena Zakona o letalstvu (Uradni list RS, št. 81/2010-UPB1 in 46/2016) in 2. odstavka 18. člena Uredbe o sistemih brezpilotnih zrakoplovov (Uradni list RS, št. 52/16 in 81/16-popr), v nadaljevanju: uredba) ter izjave stranke: NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, za opravljanje letalskih dejavnosti s sistemi brezpilotnih zrakoplovov (v nadaljevanju izjava) izdaja naslednje


POTRDILO

- Agencija **potrjuje prejem izjave** za opravljanje letalskih dejavnosti operaterja: NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO, Večna pot 111, 1000 Ljubljana.
- Operater **lahko prične z izvajanjem letalskih dejavnosti po prejemu tega potrdila** v skladu z izjavo, če je predhodno izpolnil obveznosti v zvezi z varstvom osebnih podatkov iz 5. odstavka 19. člena Uredbe.
- Potrdilo je v skladu s 77. in v zvezi s 76. členom Zakona o letalstvu veljavno **do 05.08.2018**.
- Agencija izvaja nadzor operaterja v skladu s 80. členom Zakona o letalstvu.

Samo Hribar,
Letalski nadzornik



Vročiti:
- NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO, Večna pot 111, 1000 Ljubljana - osebna vročitev po ZUP-u,
Vložiti:
- zbirka dokumentarnega gradiva.



JAVNA AGENCIJA ZA CIVILNO LETALSTVO REPUBLIKE SLOVENIJE
KOTNIKOVA ULICA 19A SI-1000 LJUBLJANA SLOVENIJA
T: +386 1 244 96 00 F: +386 1 244 96 99
OPIS:CAA
NIK:CBLS