

# PRISTOPI ZA BOLJŠE PREPOZNAVANJE CIANOBAKTERIJ KOT GROŽNJE ZA ZDRAVJE LJUDI IN OKOLJA

## APPROACHES TO BETTER IDENTIFICATION OF CYANOBACTERIA AS A THREAT TO HUMAN AND ENVIRONMENTAL HEALTH

### Anja Bubik

viš. pred. dr., Visoka šola za varstvo okolja, Trg mladosti 7, Velenje, anja.bubik@vsvo.si

### Tina Eleršek

doc. dr., Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, Ljubljana, tina.elersek@nib.si

#### Povzetek

Povečana obremenjenost površinskih voda je eden izmed resnih globalnih okoljskih problemov. Še posebej zaskrbljujoči so vodni viri, namenjeni pripravi pitnih voda, rekreacijske ali namakalne vode, pa tudi bogata gojitvena območja rib. Povečana obremenitev s hranilnimi dušikovimi in fosforjevimi spojinami, ki povzročata eutrofikacijo, v kombinaciji z drugimi okoljskimi dejavniki pogosto vodi do masovnega razrasta fitoplanktona. »Cvetenje« (intenzivna rast) cianobakterij predstavlja motnjo in pretnjo za okolje, njihovi aktivni metabolni produkti cianotoksini pa grožnjo za zdravje organizmov, tudi ljudi. Zastrupitev s cianotoksini v Braziliji leta 1996 je bila pomembna za razvoj regulatornih pristopov rednega zasledovanja cvetenj v svetu, pozneje še novih preventivnih metod. Tudi veliko slovenskih površinskih vodnih teles je obremenjenih z organskimi in anorganskimi snovmi, zato v njih prihaja do rednih ali občasnih, toksičnih ali netoksičnih, cianobakterijskih cvetenj. Na področju preventivnih dejavnosti obstajajo različne možnosti – zaznavanja grožnje cianotoksinov na eni strani in ozaveščanja ljudi o nevarnosti pojava na drugi. Pomembno je, da jih pravilno in pravočasno uvedemo ter s tem okrepimo širše zavedanje glede razsežnosti in moči naravnih organizmov ter družbeno odgovorno sprejmemo tudi skrb za vodne vire.

#### Abstract

Increased pollution of surface waters is one of the most serious global environmental problems. Water resources intended for drinking water supply, recreational or irrigation waters, and abundant fish farming areas are of particular concern. An increased load of nutrient nitrogen and phosphorus compounds causing eutrophication, in combination with other favourable environmental factors, often leads to massive growth of aquatic phytoplankton. Cyanobacterial "blooming" (intense growth) poses a disturbance and danger to the environment, and their active metabolic products – cyanotoxins – threaten the health of living organisms, including humans. Cyanotoxin poisoning in Brazil in 1996 contributed vigorously to the development of regulatory phytoplankton monitoring approaches worldwide, and later to new preventive methods. Many Slovenian surface water bodies are also polluted with organic and inorganic matter, which causes regular or occasional toxic or non-toxic cyanobacterial blooms. There are various options for preventive actions, detecting the threat of cyanotoxins on the one hand and raising people's awareness of the risk of occurrence on the other. It is important that we implement all activities properly and in a timely manner, thereby enhancing broader awareness of the magnitude and power of natural organisms and accepting socially responsible care for all water resources.

## Uvod

Kriza z vodo je eno največjih tveganj v spreminjajočem se svetu, saj trenutno upravljanje voda ni dovolj za obvladovanje velikega izziva zagotavljanja trajnosti v prihodnosti. Pomembno se je zavedati, da so sedanji vodni viri edini vir vseh dejavnosti, povezanih z vodo. Le dobro upravljanje vodnih virov danes lahko v prihodnosti zmanjša tveganje.

Podnebne spremembe in eutrofikacija (obremenitev s hranili) sta opredeljeni kot glavni grožnji za delovanje

celinskih vodnih ekosistemov. Vodna telesa (zajetja, ribniki, bajerji, zadrževalniki in jezera) so s svojimi fizikalnimi, kemičnimi in biološkimi lastnostmi zelo občutljiva na okoljske spremembe. Zvišanje temperature lahko v povezavi z eutrofikacijo sinergistično povzroči obsežnejša cianobakterijska cvetenja in s tem pospešeno poslabšanje kakovosti vode (Mantzouki in sod., 2018). V Sloveniji lahko pričakujemo, da bodo podnebne spremembe vplivale tudi na kmetijstvo. Po eni strani bodo poplave omogočale hitrejšo migracijo toksičnih cianobakterijskih vrst v druga, še ne obremenjena, vodna

okolja, po drugi strani pa bodo sušna obdobja zahtevala načrtovanje namakalnih sistemov. Zaradi pričakovane daljše ali intenzivnejše suše bo treba zagotoviti več vodnih teles za zalivanje in namakanje kmetijskih površin. Za uporabo vodnih teles s potencialom za razrast cianobakterij je nujno poznati tveganja in posledice nevarnih cianotoksinov, ki jih proizvajajo cianobakterije, saj se bodo tako prenašali po prehranjevalni verigi vse do človeka. Odgovorno ravnanje z vodnimi viri nam bo omogočilo preprečitev prekomernih cianobakterijskih cvetenj in ublažilo naravne grožnje, ki jih lahko povzroči toksičen masovni razrast. Vendar le hitro zaznavanje potencialno strupenih cianobakterijskih vrst skupaj z višjo stopnjo ozaveščenosti ljudi predstavlja možnost načrtovanja kakovostnih ukrepov.

## Cianobakterijski toksini

Cianobakterije proizvajajo različne snovi s številnimi biološkimi aktivnostmi. Nekateri cianobakterijski sevi proizvajajo toksine, ki jih glede na način delovanja delimo na hepatotoksine, nevrotoksine, endotoksine in citotoksine (Carmichael, 1992; Namikoshi in Rinehart, 1996). Ob razpadu cianobakterijskega cveta se toksini sprostitjo v vodo, s katero smo živi organizmi v stiku na različne načine; ljudje predvsem s pitno vodo, hrano, rekreativnimi dejavnostmi in aerosoli (na primer skozi kožo, z vdihavanjem ali hemodializo).

Najpogostejša in količinsko najbogatejša strukturna oblika biološko aktivnih snovi cianobakterij so ciklični peptidi. Med njimi so dobro poznani predvsem hepatotoksični mikrocistini, poleg teh pa so pogosti še depsipeptidi in anabaenopeptini. Predstavnik zadnjih dveh skupin običajno uvrščamo med nehepatotoksične cianopeptide oziroma v širšo skupino peptidaznih inhibitorjev (Namikoshi in Rinehart, 1996). Na področju hepatotoksinov je narejenih veliko raziskav, malo manj pa na področju nehepatotoksičnih toksinov (na primer nevrotoksinov).

Mikrocistini so dobro raziskana in raznovrstna skupina hepatotoksinov z več kot 100 strukturnimi oblikami, med katerimi je najbolje opisan mikrocistin-LR. Na podlagi njihove močne in specifične inhibicije delovanja proteinskih fosfatov 1 in 2A, dveh ključnih encimov v celičnih procesih, mikrocistine povezujejo s citotoksičnostjo in pospeševanjem nastanka tumorjev. Pokazali so tudi, da sprožijo poškodbe DNA (genotoksičnost) in delujejo kot tumorski iniciatorji (Žegura, 2016). Možgani so poleg jeter pomembna tarča delovanja cianobakterijskih toksinov (Filipič in sod., 2007). V kompleksnih cianobakterijskih vzorcih, ki prav tako kažejo toksičnost (Šuput in sod., 2002; Palíková in sod., 2007), pa skupaj z mikrocistini najdemo tudi druge pogoste predstavnike cianobakterijskih peptidov. V naših *in vitro* študijah na možganskih celicah – astrocitah smo preučevali tri netoksične cianobakterijske

peptide, izolirane iz cveta Blejskega jezera. Pokazali smo na močan vpliv cianobakterijskih peptidov na rast celic, učinke na ravni celične delitve in metabolne aktivnosti ter znotrajcelične organizacije. Na podlagi ugotovljenih učinkov smo predlagali, da se izraz netoksični nadomesti z izrazom nehepatotoksični cianobakterijski peptidi (Bubik in sod., 2008; Bubik, 2012). Z raziskavami smo prispevali k odkrivanju učinkov cianobakterijskih aktivnih snovi, tudi netoksičnih, na možgane. Tako prispevamo k hitrejšemu razvoju novih molekularnih tarč in razumevanju načina delovanja, kar je pomembno za zdravje ljudi.

Vsa spoznanja zahtevajo previdno in dosledno ravnanje s cianobakterijskimi cvetenji in usmerjajo raziskave v preučevanje učinkov vseh metabolnih produktov, tudi netoksičnih, samih ali v kombinaciji z drugimi, kot je v naravi zelo pogosto. Alge in cianobakterije pa so lahko po drugi strani tudi testni organizem, s katerim v laboratorijih testiramo različne strupene kemikalije (Eleršek in sod., 2013, 2016, 2018).

## Toksične razsežnosti cianobakterijskih cvetenj

Brazilija ima bogato zgodovino pojavov cianobakterijskih cvetenj in onesnaženj celinskih ekosistemov s cianobakterijskimi toksini. Zaradi njihove visoke toksičnosti (tudi za človeka) je redni monitoring cianobakterij v vodnih zajetjih, ki so namenjena javni oskrbi, zelo pomemben. Toksičnost vodnih teles, namenjenih javni oskrbi, so opazili v številnih regijah, zato je bila Brazilijska prva država, ki je leta 2001 uveljavila zakonodajni nadzor nad cianobakterijami in njihovimi toksini v vodah, ki se uporabljajo kot viri pitne vode (Azevedo in sod., 2002). Za spremljanje vodnih zajetij sta nujna štetje celic potencialno strupenih cianobakterij in kvantitativna določitev njihovih toksinov (BRASIL, 2011; Bittencourt-Olivera in sod., 2013). Tudi druge države so pozneje uvedle predpise ali smernice za cianotoksine v pitni vodi, neke tudi za rekreacijske in namakalne vode. Večina izhaja iz smernic Svetovne zdravstvene organizacije iz leta 1998, s katerimi so določili dovoljeno koncentracijo mikrocistina-LR v pitni vodi 1 µg/L (Svetovna zdravstvena organizacija, 2017). Za primer, v Braziliji so postavili mejne vrednosti 1 µg/L za mikrocistine, 3 µg/L za ekvivalent saksitoksina in 15 µg/L za cilindrospermopsin. Testiranje strupenosti in analiza toksinov pa sta nujna, kadar število celic presega 10.000 celic/mL ali 1 mm<sup>3</sup>/L biovoluma (Codd in sod., 2005). V Sloveniji še nimamo zakonodaje, ki bi predpisovala spremljanje cianotoksinov v celinskih vodah. Z monitoringom kakovosti površinskih voda, ki ga zahteva Vodna direktiva, se preverja kemijsko in ekološko stanje vodnih teles. Pri tem se sicer upošteva tudi biološki element fitoplankton (ARSO), kar pa ne vključuje nadzora nad cianobakterijami in njihovimi toksini.

Najodmevnejša zastrupitev s cianobakterijskimi toksini se je zgodila v Braziliji leta 1996, kjer so na kliniki za hemodializo v mestu Caruaru v zvezni državi Pernambuco pacientom akutno odpovedala jetra. Pri večini pacientov so se pojavili nevarni simptomi, od nevroloških do akutnih jetrnih poškodb. Kar 116 (89 %) od 131 bolnikov je izkazovalo motnje vida, slabost in bruhanje, 100 jih je razvilo akutno odpoved jeter, 76 celo s smrtnim izidom. Danes lahko 52 smrti pripišemo skupnemu sindromu, ki se imenuje »Caruarujev sindrom«. Vzrok za izbruh so bili cianobakterijski toksini. V primarnem vodnem zajetju in sistemu za čiščenje vode na kliniki ter v serumu in jetrnem tkivu bolnikov so identificirali vsebnost hepatotoksičnih cianotoksinov, več tipov mikrocistinov in cilindrospermopsina (Azevedo in sod., 2002). Ocenili so, da je bila koncentracija mikrocistinov v uporabljeni vodi približno 20-krat višja od koncentracije, ki jo Svetovna zdravstvena organizacija dovoljuje kot najvišjo dovoljeno vrednost zaužitja mikrocistinov s pitno vodo (Carmichael in sod., 2001).

## Toksična cianobakterijska cvetenja v Sloveniji

V Sloveniji imamo razmeroma veliko površinskih voda različnih velikosti in izvora. Redna cvetenja cianobakterij se pojavljajo predvsem v severovzhodni Sloveniji, na agrarno intenzivnih območjih. Podatki rednih monitoringov kakovosti površinskih voda pri zadrževalnikih na tem območju kažejo na obremenitev s hranili oziroma evtrofnost (ARSO, 2018). Leta 1997 so sodelavci Nacionalnega inštituta za biologijo prvič objavili podatke o občasnem masovnem pojavljanju cianobakterij na Blejskem jezeru in Koseškem bajerju v Ljubljani (Sedmak in Kosi, 1997; Sedmak, 2006), kjer so pozneje izvedli tudi več sledilnih poskusov s sondami, ki zasledujejo pigmente cianobakterij in alg. Na Blejskem jezeru so z dotokom reke Radovne in položitvijo natege, globinskega iztoka jezera, umetno spremenili hidrološke značilnosti jezera in tako zmanjšali zadrževalni čas vode v jezeru ter omogočili celovito kroženje vode. Z ureditvijo kanalizacijskega sistema so zmanjšali dotok fekalnih izpustov (vir organskih snovi) v jezero. Kljub obnovitvenim ukrepom so podatki državnega monitoringa kakovosti površinskih voda pokazali, da Blejsko jezero zaradi občasnih preobremenjenosti s hranili kot posledica rasti turizma, kmetijstva in ribištva občasno ne dosega dobrega ekološkega stanja (ARSO, 2018). Evtrofnost se odraža na združbi fitoplanktona, saj še danes cvetijo različne vrste alg in cianobakterij. Cvetenja ne uničijo samo videza in kakovosti vodnega telesa, temveč lahko posledično zmanjšujejo uspešnost turizma, športa in rekreacije na prizadetem območju. Še več, ob pojavu cvetenja toksičnih vrst cianobakterij in sproščanju cianotoksinov v vodno telo predstavlja cvetenje tudi grožnja za zdravje rastlin, živali in ljudi. Pritiski na jezero se stopnjujejo z ekstremnim naraščanjem turizma,



Slika 1: Gosta škrlatna razrast strupene cianobakterije *Planktothrix rubescens* na Blejskem jezeru (foto: M. Zupančič)

Figure 1: Massive, dense scarlet growth of toxic cyanobacteria *Planktothrix rubescens* in Lake Bled (Photo: M. Zupančič)

ki prinaša več prometa in obremenitve komunalnega omrežja. Tako smo lahko tudi leta 2020 v zimskem in zgodnjem spomladanskem obdobju zaznali izrazito škrlatno goščo na površini Blejskega jezera (slika 1), ki je bila glede na prejšnja leta prisotna daljše obdobje. Pojav nas opozarja, da vodno telo ni v ravnovesju in ne napoveduje pozitivne prihodnosti.

## Preventivna orodja za zaznavanje nevarnosti cianobakterijskega cvetenja

### Razvoj alternativnih molekularnih metod

V zadnjih letih se razvijajo nova orodja na podlagi genskega materiala organizmov (DNA), t. i. molekularne metode, ki bi lahko dopolnjevale in sčasoma nadomestile tradicionalne strategije biomonitoringa (Vasselon in sod., 2017). Skupaj z evropskimi strokovnjaki (v okviru Interreg projekta Eco-AlpsWater) tudi v Sloveniji razvijamo inovativne metode, ki temeljijo na analizi okoljske DNA (eDNA). Okoljska DNA je celokupni dedni material vseh organizmov, ki so v tistem okolju prisotni. Pri

mikroorganizmih (h katerim spadajo tudi cianobakterije in mikroalge) ta DNA izhaja neposredno iz njihovih celic, ki jih vzorčimo skupaj z vodo, pri večjih organizmih pa se genetski material prenaša v okolje s telesnimi izločki, odmrlo kožo, dlako in podobnim ter lahko v vodnem okolju ostane več dni ali celo tednov. Mednarodno smo vključeni tudi v evropsko mrežo DNAquaNet COST (CA 15219), kjer preučujemo možnosti uporabe molekularne detekcije alg v biološkem monitoringu. Nov pristop vključuje metode verižne reakcije s polimerazo (PCR) in sekvenciranje naslednje generacije (NGS) za analizo eDNA v vodnih telesih, kar omogoča hitro prepoznavanje vrst z nizkimi stroški. Osredotočeni smo predvsem na potencialno strupene cianobakterije, ki predstavljajo veliko tveganje. Teh trenutno še ne moremo dovolj zgodaj zaznati, da bi delovali preventivno, še preden bi nastalo nepovratno škodljivo cvetenje strupenih cianobakterij.

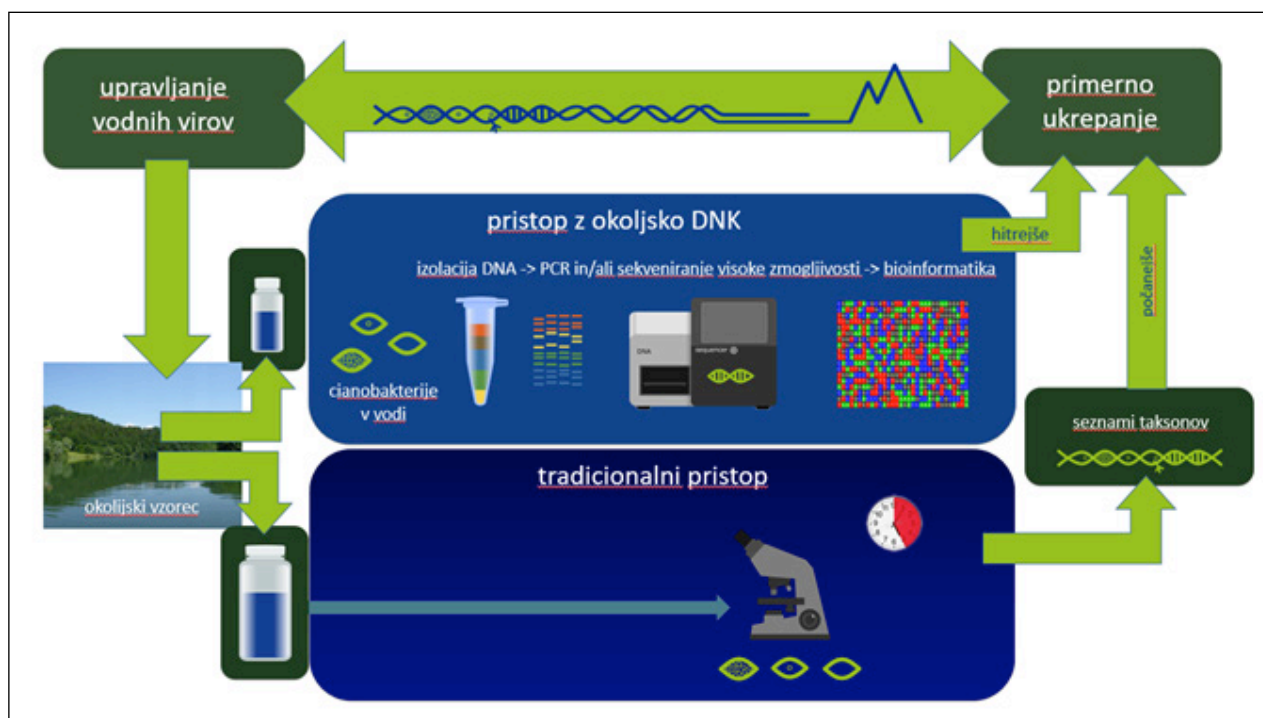
zaznave eDNA je pomembno za povečanje potencialnih sinergij med znanstveniki, okoljskimi agencijami in odločevalci (Leese in sod., 2018).

V praksi se je že izkazalo za izjemno koristno, da smo za leto 2019 načrtovali in optimizirali pristop qPCR z razvojem molekularnih orodij kot del sistema zgodnjega opozarjanja, ki bo omogočil hitrejše in natančnejše določanje toksične grožnje. Poleti 2019 so se v Sloveniji namreč izkazala za problematična cvetenja jezer v Triglavskem narodnem parku, konec leta 2019 pa tudi na Bledu zaradi prekomernega razrasta toksične cianobakterije. Na teh turističnih lokacijah, kjer so antropogeni pritiski precejšnji, gre za večjo ogroženost zaradi strupenih cianobakterij, ki pa se bo zaradi podnebnih sprememb in eutrofikacije lahko v povečanem obsegu v prihodnosti razširila v več mest v državi.

S ciljem, da bomo v Sloveniji pravočasno pripravljeni na posledice globalnih podnebnih sprememb, Nacionalni inštitut za biologijo (NIB) optimizira kvantitativno PCR-metodo (qPCR) za zgodnjo detekcijo toksigenih cianobakterij na podlagi eDNA. Ena izmed njenih prednosti je visoka specifičnost, ki nam omogoča določanje natančno določenih strupenih vrst. Tako bomo nadgradili tradicionalne metode z inovativnimi pristopi spremljanja (zgodnje zaznavanje) za boljše upravljanje vodnih virov in ekosistemskih storitev (slika 2). S tem krepimo varovanje, ohranjanje, restavratorsko in ekosistemsko funkcijo slovenskih jezer in rek. Vključitev znanstvenikov v zgodnje načrtovanje vpeljevanja tehnologij

## Poznavanje vplivov cianobakterijskega cvetenja

Ozaveščenost oziroma zgodnje prepoznavanje pojava cianobakterijskega cvetenja skupaj z zavedanjem o njegovem toksičnem potencialu je eden pomembnejših vidikov spremljanja tega pojava. Med študenti visokošolskega študija Varstva okolja in ekotehnologij, bodočimi strokovnjaki na področju varstva okolja, tudi na področju upravljanja voda, smo preverili, koliko dobro poznajo pojav cianobakterijskega cvetenja (preglednica 1) in kako se zavedajo morebitnih



Slika 2: Primerjava tradicionalnih in novih pristopov z okoljsko DNA za upravljanje vodnih virov ter primerno ukrepanje

Figure 2: Comparison of traditional and new approaches using environmental DNA for water resource management and appropriate action

I. Kaj pomeni cvetenje cianobakterij?	Prej	Potem
Masovni pojav, razrast cianobakterij	95 %	95 %
Pojav, ki je posledica prekomerne količine organskih hranil v vodi.	73 %	90 %
Pojav, ki je posledica eutrofikacije.	36 %	<b>80 %</b>
Pojav, ki je značilen za površinske vode v Sloveniji.	100 %	85 %
II. Cvetenje cianobakterij ima številne negativne vplive na vodni ekosistem. Katere?		
Slab estetski videz (vonj, videz)	55 %	85 %
Zmanjšana biološka raznovrstnost	73 %	80 %
Zmanjšana koncentracija raztopljenega kisika v vodi	68 %	90 %
Sproščanje strupenih snovi cianobakterij v vodo	41 %	<b>75 %</b>

Preglednica 1: Poznavanje cianobakterijskega cvetenja med študenti pred pedagoškimi dejavnostmi na to temo in po njih (krepko so označene največje razlike)

Table 1: Knowledge of cyanobacterial blooms in students before and after educational activities on this topic (the maximum differences are marked in bold)

nevarnostih pojava ter vloge cianobakterijskih toksinov (preglednica 2). V raziskavo je bilo do zdaj vključenih že 83 študentov prvih letnikov, z raziskavo pa bomo nadaljevali tudi v prihodnosti. Njihova znanje in ozaveščenost preverjamo pred izvedbo vsebinskega sklopa predavanj, terenskih in laboratorijskih vaj na temo cianobakterij in njihovega cvetenja ter po izvedbi.

Študenti so pred načrtovanimi pedagoškimi dejavnostmi pojem cvetenja poznali ali zanj že slišali (91 %). Prevladovalo je mnenje, da je v Sloveniji cianobakterijsko cvetenje prisotno na večjih jezerih, predvsem na Blejskem (68 %), vendar ga še niso opazili (91 %). Pojav so le delno povezovali z manjšimi zadrževalniki (23 %) in umetnimi akumulacijskimi zajetji (32 %). Niso prepoznali procesa eutrofikacije kot enega izmed potencialnih povzročiteljev cianobakterijskega cvetenja, vendar se je mnenje po dejavnostih močno spremenilo (preglednica 1, vprašanje I, krepko). Na začetku so prepoznali najbolj logične in vidne učinke cvetenj na vodni ekosistem, ne pa tudi sposobnosti sproščanja aktivnih snovi v vodno telo, kar se je po aktivnostih zvišalo (preglednica 1, vprašanje II, krepko).

Pred izvedbo pedagoških dejavnosti študenti niso poznali natančnih razsežnosti toksičnih cvetenj ter vloge cianotoksinov, vendar jih je 82 % menilo, da cvetenje v splošnem vpliva na zdravje živali in ljudi. Po koncu pa so znali natančneje opredeliti potencialne negativne učinke, predvsem tiste, ki so povezani z zdravjem ljudi (preglednica 2, vprašanje I, krepko). Prav tako so prepoznali ključne razmere, v katerih se lahko koncentracija

cianotoksinov v vodnem telesu zviša (preglednica 2, vprašanje II, krepko). To se nam zdi pomembno pri preventivnih dejanjih, ki jih bodo lahko študenti v prihodnosti udeležili ali nanje opozorili.

Na podlagi trenutnih rezultatov smo sklenili, da lahko z vključevanjem problematike v pedagoški proces bistveno zvišamo zavedanje o potencialnih nevarnostih cianobakterijskih cvetenj in cianotoksinov med študenti. Izsledki raziskave bodo pomembno prispevali k načrtovanju in vpeljevanju preventivnih ter ozaveščevalnih dejavnosti tudi za širšo populacijo.

## Sklepne misli

Raziskave mikroorganizmov in njihovih aktivnih produktov, ki se pojavljajo v naravi številčno ter pogosto v zelo velikih količinah, odpirajo možnosti za razumevanje njihovega delovanja na okolje in druga živa bitja. Hkrati poznavanje interakcij in učinkov predstavlja temelj za vzpostavitev ocenjevanja tveganja ter uvedbo ustreznih preventivnih ukrepov pri izpostavljenosti okolja, živali in ljudi.

I. Cianobakterijsko cvetenje potencialno negativno vpliva tudi na živali in ljudi, ker ...	
se lahko organizem zaradi gošče zaduši.	30 %
povzroča akutne bolezni črevesja (bruhanje, diareja).	<b>85 %</b>
tvori snovi, ki so lahko toksične za jetra, možgane.	<b>70 %</b>
lahko povzroči alergijske reakcije na koži.	15 %
zastruplja hrano, ki jo zaužijemo.	20 %
lahko tvori sekundarne metabolite, ki delujejo kot toksini.	<b>55 %</b>
II. Cianobakterijske toksine lahko najdemo:	
na vsakem vodnem telesu, na katerem se pojavi cvetenje.	45 %
preden se vzpostavi cianobakterijska gošča.	0 %
ko cianobakterijska gošča razpade.	<b>95 %</b>
specifično na mestu, kamor veter ali vodni tok odpihne cianobakterijsko goščo.	5 %
v pitni vodi iz podtalnice.	0 %
v pitni vodi, ki ni ustrezno prečiščena in jo črpamo iz vodnih zbiralnikov.	<b>50 %</b>
v tkivih vodnih organizmov, ki so bili izpostavljeni toksičnemu cvetenju.	<b>50 %</b>

Preglednica 2: Poznavanje negativnih vplivov cianobakterijskega cvetenja in njihovih toksinov med študenti po izvedenih pedagoških dejavnostih na to temo (krepko so označeni najpogostejši odgovori)

Table 2: Knowledge of the negative effects of cyanobacterial blooms and their toxins in students after educational activities on this topic (the most frequent answers are marked in bold)

Na tem področju vpeljujemo nove tehnologije z razvojem preventivnih metod detekcije toksigenih cianobakterij, še preden se uničujoče prekomerno namnožijo. Skrajni čas je, da se molekularne metode zaznavanja cianobakterij na podlagi eDNA in qPCR vpeljejo tudi v slovenski prostor, saj tako hitre in specifične zaznave ni mogoče doseči z nobeno drugo znano metodo. S finančno podporo Ministrstva za obrambo Republike Slovenije, Interreg projekta Eco-AlpsWater in Agencije RS za raziskovalno dejavnost smo na NIB v letih 2019–2021 že izvajali optimizacijo qPCR detekcije potencialno strupenih cianobakterij.

Tudi ozaveščanje širše javnosti je pomemben pristop k vzpostavitvi primernih preventivnih ukrepov. Pilotni primer izvajamo med študenti Visoke šole za varstvo okolja, pri čemer nas prve ugotovitve že opozarjajo na to, da smo ljudje v splošnem premalo seznanjeni z ljudem najnevarnejšimi učinki in posledicami cianobakterijskih cvetenj. Po drugi strani smo pokazali, da lahko s premišljenim predstavljanjem vsebin, bodisi ustno, z javnimi dogodki ali po družbenih omrežjih, zavedanje hitro okrepimo. Leta 2019 smo tako na NIB začeli ozaveščati prebivalstvo glede molekularnih orodij s sodobno komunikacijsko tehnologijo. Pripravili smo

krajši videoposnetek (<https://youtu.be/VIKk9LVRqho>), ki ga širimo po družbenih omrežjih. Tako bomo še naprej ozaveščali in obveščali širšo javnost tudi o novih tehnikah določanja ter analiziranja eDNA. Leta 2020 smo znanje uporabili za določanje potencialno strupenih cianobakterij, kar za širšo javnost prikazujemo v novem videoposnetku v slovenščini (<https://youtu.be/YWHTAwmqmqOU>).

Opisane dejavnosti so v svojem bistvu preventivne dejavnosti, ki omogočajo ukrepanje ob naravnih (podnebne spremembe) in drugih nesrečah. V skrajnih primerih lahko razrast cianobakterij predstavlja tudi naravni obrat za proizvodnjo biološkega orožja. Kako bomo to omejili, je večinoma naša skrb, zato je pomembno, da v razvoj vlagamo, še preden bo prepozno. Čeprav gre za mikroorganizme, jih ne smemo podcenjevati, saj se navsezadnje že od leta 2020 ves svet bori proti posledicam virusov. Podobne scenarije si lahko zamislimo, če bi prišlo do množične okužbe vodnih virov s strupenimi cianobakterijami, saj smo ljudje izjemno odvisni od celinskih vodnih teles, ki jih večinske slane vode ne morejo nadomestiti. Pri tem je najpomembnejše širjenje zavedanja o tem, kako zelo smo ljudje povezani s pojavom cvetenja fitoplanktona.

## Viri in literatura

1. Agencija Republike Slovenija za okolje, ARSO, 2018. Kakovost kopalnih voda v Sloveniji, Poročilo za leto 2017; ARSO, Ljubljana, 23.
2. Azevedo, S. M. F. O., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R. in Eaglesham, G. K., 2002. Human Intoxication by Microcystins During Renal Dialysis Treatment in Caruaru – Brazil. *Toxicology*, 181–182(0), 441–446.
3. Bittencourt-Oliveira, M.C., Piccin-Santos, V., Moura, A. N., Aragão-Tavares, N. K. C., Cordeiro-Araújo, M. K., 2014. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86(1), 297–309.
4. Bubik, A., Sedmak, B., Novinec, M., Lenarcic, B., Lah, T. T., 2008. Cytotoxic and Peptidase Inhibitory Activities of Selected Non-hepatotoxic Cyclic Peptides from Cyanobacteria. *Biological Chemistry*, 389(10), 1339–1346.
5. Bubik, A., 2012. Ekološki, biološki in biokemični učinki nekaterih pogostih ne-hepatotoksičnih cikličnih cianopeptidov (n-hCCP), doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, 145.
6. BRASIL, 2011. Regulation MS N° 2914, Guidelines for drinking Water Quality, Official Law Report's, 12. december 2011.
7. Carmichael, W. W., Azevedo, S. M., An, J. S., Molica, R. J., Jochimsen, E. M., Lau, S., Rinehart, K. L., Shaw, G. R., Eaglesham, G. K., 2001. Human Fatalities from Cyanobacteria: Chemical and Biological Evidence for Cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, 109(7), 663–668.
8. Codd, G. A., Azevedo, S. M. F. O., Bagchi, S. N., Burch, M. D., Carmichael, W. W., Harding, W. R., Kaya, K., Utkilen, H. C., 2005. CYANONET, a Global Network for Cyanobacterial Bloom and Toxin Risk Management: Initial Situation Assessment and Recommendations. UNESCO IHP-VI.
9. Eleršek, T., Milavec, S., Korošec, M., Brezovsek, P., Negreira, N., Zonja, B., de Alda, M. L., Barceló, D., Heath, E., Ščančar, J., Filipič, M., 2016. Toxicity of the mixture of selected antineoplastic drugs against aquatic primary producers. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 14780–14790.
10. Eleršek, T., Plazar, J., Filipič, M., 2013. A method for the assessment of DNA damage in individual, one day old, zebrafish embryo (*Danio rerio*), without prior cell isolation. *Toxicology in Vitro*, 27(8), 2156–2159.
11. Eleršek, T., Ženko, M., Filipič, M., 2018. Ecotoxicity of disinfectant benzalkonium chloride and its mixture with antineoplastic drug 5-fluorouracil towards alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *PeerJ*, (6), 1–14.
12. Filipič, M., Žegura, B., Sedmak, B., Horvat - Žnidaršič, I., Milutinovič, A., Špuput, D., 2007. Subchronic Exposure of Rats to Sublethal Dose of Microcystin-YR Induces DNA Damage in Multiple Organs. *Radiology and Oncology*, 41(1), 15–22.
13. Leese, F., Bouchez, A., Abarenkov, K., Altermatt, F., Borja, Á., Bruce, K., Ekrem, T., Čiampor, F., Čiamporová-Zatovičová, Z., Costa, F. O., Duarte, S., Elbrecht, V., Fontaneto, D., Franc, A., Geiger, M. F., Hering, D., Kahlert, M., Kalamujić Stroil, B., Kelly, M., ... Weigand, A. M. (2018). Why We Need Sustainable Networks Bridging Countries, Disciplines, Cultures and Generations for Aquatic Biomonitoring 2.0: A Perspective Derived From the DNAqua-Net COST Action. *Advances in Ecological Research*, 58, 63–99. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2018.01.001>.
14. Mantzouki, E., Lüring, M., Fastner, J., de Senerpont Domis, L., Wilk-Woźniak, E., Korevieniė, J., Seelen, L., Teurlincx, S., Verstijnen, Y., Krztoń, W., Walusiak, E., Karosienė, J., Kasperovienė, J., Savadova, K., Vitonytė, I., Cillero-Castro, C., Budzynska, A., Goldyn, R., Kozak, A., ... Ibelings, B. W., 2018. Temperature effects explain continental scale distribution of cyanobacterial toxins. *Toxins*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/toxins10040156>.

15. Namikoshi, M., Rinehart, K. L., 1996. Bioactive Compounds Produced by Cyanobacteria. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 17(5), 373–384.
16. Palíková, M., Krejčí, R., Hilscherová, K., Babica, P., Navrátil, S., Kopp, R., Bláha L., 2007. Effect of Different Cyanobacterial Biomasses and Their Fractions with Variable Microcystin Content on Embryonal Development of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquatic Toxicology*, 81(3), 312–318.
17. Sedmak, B., Kosi, G., 1997. Microcystins in Slovene Freshwaters (Central Europe) - First Report. *Natural Toxins*, 5(2), 64–73.
18. Sedmak, B., 2006. Toksичne cianobakterije: prebivalstvo proti vodi – medsebojna Pretnja = Toxic Cyanobacteria: Population Against Water – a Mutual Threat. *UJMA*, 137–143.
19. Svetovna zdravstvena organizacija, 2017. Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st addendum, WHO Publishing, Geneva.
20. Šuput, D., Milutinović, A., Serša, I., Sedmak, B. 2002. Chronic Exposure to Cyanobacterial Lyophilisate Reveals Stronger Effects Than Exposure to Purified Microcystins - a MRI Study. *Radiology and Oncology*, 36(2), 165–167.
21. Vasselon, V., Domaizon, I., Rimet, F., Kahlert, M., Bouchez, A., 2017. Application of high-throughput sequencing (HTS) metabarcoding to diatom biomonitoring: do DNA extraction methods matter? *Freshwater Science* 36, 162–177.
22. Žegura, B., 2016. An Overview of the Mechanisms of Microcystin-LR Genotoxicity and Potential Carcinogenicity, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 16(0), 1–21.
23. <https://youtu.be/VIKk9LVRqho>, 19. 4. 2021.
24. <https://youtu.be/YWHTAwmqmOU>, 19. 4. 2021.