

# METODE ISTRAŽIVANJA CIJANOBAKTERIJA U VODENIM EKOSUSTAVIMA

Anamarija Kolda, mag. oecol.  
Institut Ruđer Bošković  
Bijenička 54, 10 000 Zagreb  
Anamarija.Kolda@irb.hr

Cijanobakterije su najstariji fotosintetski organizmi na Zemlji. Izuzetno su zanimljivi zbog svoje građe i uloge u evolucijskim procesima stvaranja eukariotske stanice. Naseljavaju cijeli niz staništa koji su često karakterizirani ekstremnim životnim uvjetima. Popunjavaju brojne ekološke niše te značajno doprinose kruženju elemenata u prirodi. Cijanobakterije nazivamo "pionirima", jer prve nastanjuju negostoljubive okoliše. Istraživanje cijanobakterija u vodenim ekosustavima često predstavlja izazov u raznim znanstvenim područjima. Primjenjuju se brojne metode, počevši od kemijskih, bioloških i ekoloških metoda do najsuvremenijih molekularnih metoda i optičkih praćenja putem satelita. U ovom su radu prikazana dva primjera istraživanja cijanobakterija: u mikrobnom obraštaju (eng. *microbial mat*), gdje se javljaju kao važna fotoautotrofna komponenta te u akvakulturi, gdje svojim cvjetanjem i toksinima mogu prouzročiti negativne posljedice za zdravlje čovjeka i ekosustav te materijalne štete.

**Ključne riječi:** cijanobakterije, metode istraživanja, cvjetanje cijanobakterija, mikrobnog obraštaja, akvakultura

## 1. UVOD

Cijanobakterije su vrlo stari, kozmopolitski organizmi koji su prije 2,2-2,4 milijarde godina stvorili aerobnu atmosferu i postali jedni od glavnih sudionika u velikom biološkom ciklusu ugljika, dušika i minerala (Meriluoto et al., 2017.). Cijanobakterije su među prvim organizmima koji su sintetizirali važne molekule za život na Zemlji (Banack et al. 2012.; Schirmermeister et al., 2016.; Alvarenga et al., 2017.), a prema teoriji o podrijetlu plastida od njih potječe i kloroplast (Ochoa de Alda et al. 2014.; Alvarenga et al., 2017.). Dugo su se smatrale algama i nazivale "modro-zelene alge", no danas se ti prokariotski organizmi klasificiraju u domenu Bacteria (Hug et al., 2016). Cijanobakterije naseljavaju brojna staništa, uključujući i ekstremna; od termalnih vrela, antarktičkih tala i jezera, oceana i mora, estuarija rijeka, slatkovodnih jezera te osvijetljene površine stijena i tala (Colyer et al., 2005.). One su primarni kolonizatori, sposobni preživjeti

ekstremne uvjete kao što su visoki salinitet, ekstremne temperature promjene, suše i veliku količinu UV zračenja. Mnoge vrste fiksiraju i atmosferski dušik u amonijeve ione i aminokiseline. Proces fiksiranja uglavnom se događa u heterocitama – specijaliziranim stanicama debelih stijenki u kojima se održavaju anaerobni uvjeti (slika 1), no i one cijanobakterije koje nemaju heterocite mogu imati posebne strategije fiksiranja  $N_2$  čak i u aerobnim uvjetima (Whitton i Potts, 2000.). Budući da u oceanima nema puno vrsta s heterocitama, tek je u zadnjih 10 godina utvrđeno da su cijanobakterije glavni fiksatori  $N_2$  u oceanima (Bauer et al. 2008.; Whitton i Potts 2000.). Pikocijanobakterije, jednostanične cijanobakterije sa stanicama od 2-3  $\mu m$  (Callieri et al., 2012.) čine vrlo važan udio u primarnoj proizvodnji i biomasi oceana, prelazeći 50% morskog fitoplanktona (Paerl, 2012.). Samo 2 roda, *Synechococcus* C.Nägeli i *Prochlorococcus* S.W.Chisholm, zajedno

pridonose oko 25% oceanske primarne proizvodnje (Flombaum et al. 2013.; Dvořák et al. 2014.). One također skladište nutrijente kao što su fosfor, dušik, ugljik, željezo, koji im omogućavaju rast u uvjetima gdje su ti elementi limitirani (Meriluoto et al. 2017.).



Slika 1: Cijanobakterije roda *Dolichospermum* pod svjetlosnim mikroskopom, vidljive heterocite i akinete (snimila A. Kolda)

Cijanobakterije su oduvijek fascinirale znanstvenike. Kao drevni organizmi stari oko 3,5 milijardi godina (Bellinger i Gígee, 2015.) s brojnim morfološkim oblicima i organizacijama, prvo su zainteresirale botaničare, koji i u današnje vrijeme imaju nedoumice pri taksonomskoj identifikaciji cijanobakterija, prvenstveno radi nespecifične morfologije i sličnosti u genomima (Komárek et al., 2014.). Napretkom mikroskopije i molekularnih tehnologija možemo pratiti cijanobakterijski genom koji se brzo mijenja kao odgovor na prirodne procese ili se adaptira na pritiske okolišnih uvjeta (Barrick et al. 2009.; Koonin 2009.; Tenaillon et al. 2016.; Alvarenga et al., 2017.). Razne ekološke studije počivaju na velikom metaboličkom kapacitetu cijanobakterija koji im omogućava da ostvare međusobno korisne odnose s drugim, prvenstveno eukariotskim organizmima. Dokumentirane su njihove endosimbioze i epismbioze s biljkama (palme, antocerotama, zdenčarama, mahovinama itd.), gljivama i lišajevima, dijatomejama i dinoflagelatima te životinjama (spužve, larvama kukaca, plaštenjacima itd.) (Adams 2000.; Adams et al. 2013.; Bergman et al., 2007.; Alvarenga et al., 2017.). Sekundarni metaboliti cijanobakterija, od kojih njihovi simbioti imaju koristi, imaju brojne antibakterijske, antiprotozojne, antitumorske, imunomodulatorske i druge funkcije, koje potencijalno imaju veliku farmaceutsku vrijednost (Singh et al. 2011.; Alvarenga et al., 2017.). No cijanobakterije proizvode i brojne toksine koji predstavljaju opasnost ljudskom zdravlju i okolišu, a koje sve češće dolaze do izražaja radi klimatskih promjena, o čemu će biti više riječi u radu.

Treba spomenuti i cijanobakterijske pigmente koji nam služe kao dijagnostičko sredstvo u metodama kao što su visoko specifična tekućinska kromatografija (eng. *High-performance Liquid Chromatography, HPLC*), fluorescentna mikroskopija te satelitske metode praćenja.

Obzirom na važnost i raznolikost cijanobakterija, trenutno je stavljen fokus na unaprjeđivanje metoda njihovog istraživanja, koje se sa napretkom tehnologije svakodnevno mijenjaju. U ovom je radu dan pregled istraživanja cijanobakterija u vodenim okolišima, s naglaskom na metodologiju i tehnologije koje se koriste.

## 2. METODE ISTRAŽIVANJA CIJANOBAKTERIJA

### 2.1. Ekološke metode istraživanja cijanobakterija

Eutrofikacija vodenih staništa izazvana antropološkim utjecajima imaju za posljedicu pojačan razvoj cijanobakterija, tj. njihovo cvjetanje, što predstavlja veliki problem za okoliš i ljudsko zdravlje (Luo et al. 2012.; O'Neil et al. 2012.). Ovisno o tipu vodenog tijela, metode uzorkovanja, detekcije i monitoringa cijanobakterija variraju (slika 2). Tako razlikujemo metodologije za plitka jezera, duboka jezera, akumulacije, rijeke, mora (npr. Baltičko more zbog velikih pritoka slatke vode obogaćene nutrijentima, Finni et al., 2001.) te rezervoare pitke vode (Meriluoto et al., 2017.).



Slika 2: Uzorkovanje fitoplanktona crpcem Niskin na HRZZ projektu AQUAHEALTH, snimio D. Kapetanović

Uzorkovanje cijanobakterija u vodenim okolišima može se učiniti na 3 načina: fitoplanktonskom mrežicom, crpcem ili integriranim crpcem. Prikupljeni uzorak vode mora se kemijski fiksirati odmah ili ubrzo nakon uzorkovanja, a najčešće se koristi 36% otopina formaldehida do konačne koncentracije uzorka od 4% (Bellinger i Gígee, 2015.). Ekološka praćenja i monitoring cvjetanja cijanobakterija radi se klasičnom morfološkom metodom brojanja po Utermöhl metodi (Lund et al., 1958.) pod invertnim svjetlosnim mikroskopom. Na rezultate Utermöhl analize mogu se primijeniti ekološke teorije, kao što su funkcionalne grupe. Funkcionalne grupe temelje se na ideji da se organizmi u nekom

ekosustavu, ovisno o njihovim ekološkim sličnostima i prilagodabama, sortiraju u grupe (Solbrig, 1993.; Salmaso et al., 2015.). Među najutjecajnijim teorijama funkcionalnih grupa u ekologiji fitoplantona smatraju se: Morfo-funkcionalne grupe (Salmaso i Padišak, 2007.), Funkcionalne grupe bazirane na morfologiji (MBFG, Kruk et al., 2010.) i Reynoldsove funkcionalne grupe (Reynolds et al. 2002.; Reynolds 2006.).

Primjer primjerne je istraživanje Mantzouki et al. (2016.), koji koriste ekološke Reynoldsove funkcionalne grupe za uspješnu kontrolu i upravljanje cijanobakterijama u jezerima. Autori su se fokusirali na 5 grupa cijanobakterija (S1/S2, H1/H2, LO/LM, SN i R) te su za svaku naveli ključna ekološka svojstva, kako se vrste prilagođavaju na uvjete eutrofikacije i klimatske promjene. S obzirom na upoznavanje s njihovim prednostima i manama, mogu predložiti mjere monitoringa i upravljanja jezerima.

U Republici Hrvatskoj, s obzirom da je gotovo polovica teritorija krške geološke podloge (27.265 km<sup>2</sup>) te na slabije razvijene grane poljoprivrede i industrije (Izješće o stanju okoliša u Republici Hrvatskoj, 2014.), trenutno nema većih problema s cvjetanjem cijanobakterija, kao što ima u susjednoj Srbiji (Svirčev et al., 2014.; Svirčev et al., 2017.). Ipak, u istočnoj Hrvatskoj na području poplavnih područja rijeke Dunav (Park prirode Kopački rit) eutrofna/hipertrofna obilježja voda lako dovode do pojave cijanobakterijskih cvjetanja (Mihaljević i Stević, 2011.). Ta pojava bi se u ovom slučaju mogla navesti (još uvijek) kao prirodni fenomen koji se pod utjecajem klimatskih promjena u budućnosti može intenzivirati. Autori sa Sveučilišta u Osijeku; Stević, Mihaljević, Špoljarić Maronić i Žuna Pheiffer, u svojem istraživanju koriste Funkcionalne grupe bazirane na morfologiji za monitoring cijanobakterija tog ekosustava (Stević et al., 2013.; Mihaljević et al., 2014.a, Mihaljević et al. 2014.b).

## 2.2. Kemijske metode istraživanja cijanobakterija

U istraživanju cijanobakterija pomoću kemijskih metoda koriste se pigmenti i toksini. Cijanobakterijski pigmenti služe kao biomarkeri u kemotaksonomiji, a jedna od prvih metoda za određivanje pigmenata bila je fluorometrija za detekciju klorofila *a*, koji služi kao parametar za određivanje planktonske biomase (Jeffrey et al., 1997.) (slika 3).



Slika 3: Očitavanje cijanobakterijskih pigmenata terenskom sondom AlgaeTorch na HRZZ projektu AQUAHEALTH (snimio D. Kapetanović)

Među najpoznatijim metodama je razdvajanje HPLC tehnikom koju su uveli Wright et al. (1991.), a razdvaja više od 50 različitih klorofila, karotenoida i njihovih derivata uz pomoć 3 otapala (80:20 metanol/ amonijev acetat i 0,01% BHT; acetonitril/voda i 0,01% BHT; etil acetat). Nedostatak ove metode je korištenje kantaksantina (iz grupe karotenoida) koji može koeluirati s cijanobakterijskim taksonomskim markerom zeaksantinom (Coyler et al., 2005.). Daljnje razdvajanje između oceanoloških i limnoloških istraživanja u HPLC analizi dogodilo se kod otkrića monovinil i divinil klorofila *a* (Coyler et al., 2005.). Goricke i Repta su 1993. godine razdvojili te dvije vrste, a 2001. Heukelem i Tomas napravili su tehniku razdvajanja uz pomoć 2 otapala i vitamina E kao standarda (Coyler et al., 2005.). Razdvajanje ta dva pigmenta je bitno u detekciji roda *Prochlorococcus*, koji pripada morskom pikoplanktonu i važan je sudionik u globalnom kruženju ugljika (Ito i Tanaka, 2011.). *Prochlorococcus* ima jedinstven fotosintetski sustav od proklorofit klorofil-vezajućeg proteina (Pcb) koji koristi divinil klorofil *a* i divinil klorofil *b* (Billler et al., 2015.) umjesto monovinila, što mu omogućuju fotosintezu i rast na većim dubinama u morskom vodenom stupcu, gdje je svjetlo ograničavajući čimbenik. Evolucijski je to bitna značajka koja mu omogućava da učinkovito iskorištava plavi dio svjetlosnog spektra uz pomoć divinila (Ito i Tanaka, 2011.).

Zahvaljujući maloj veličini stanice i specifičnim pigmentima, za proučavanje pikocijanobakterija, pored HPLC-a, koriste se i metode fluorescentne mikroskopije te metoda protočne citometrije (Viličić i Ljubešić, 2017.).

Među najmodernije metode istraživanja cijanobakterija ubraja se satelitsko/optičko praćenje (*engl.* optical/remote sensing). Budući da se površinsko cvjetanje može pojaviti unutar nekoliko sati bez upozorenja, teško je pratiti prostornu i vremensku distribuciju cijanobakterija. Klasična, mikroskopijska analiza je dugotrajna, dok satelitska snimka može brzo uočiti cvjetanja, te se time mogu na vrijeme primijeniti mjere za sigurno korištenje vodenog tijela. Od najkorištenijih metoda je proučavanje spektralnog oblika signala koji se reflektira od vodene površine u području vidljivog i blizu infracrvenog dijela spektra, pri čemu se koristi znanje o pomoćnim pigmentima cijanobakterija (Gilerson et al. 2010.; Babin i Stramski 2002.; Pozdnyaiakov i Grassl 2003.; Roy 2011.; Bresciani et al. 2016.; Gurlin, Gitelson, i Moses 2011.; Gitelson et al. 2008.). Pri tome se koriste cijanobakterijski «dijagnostički pigmenti», fikocijanin s karakterističnim maksimumom oko 620 nm i 650 nm valne duljine (Gons et al. 2005.; Bresciani et al. 2016.) te fikoeritrin s maksimumom pri 565 i 600 nm valne duljine (Bresciani et al. 2011., 2016.).

Cijanobakterije najviše privlače pozornost svojim cijanotoksinima koji nastaju tijekom cvjetanja, poznatima iz literature kao HAB (*engl.* Harmful Algae Bloom). Pojam HAB obuhvaća cijeli fitoplankton (dakle

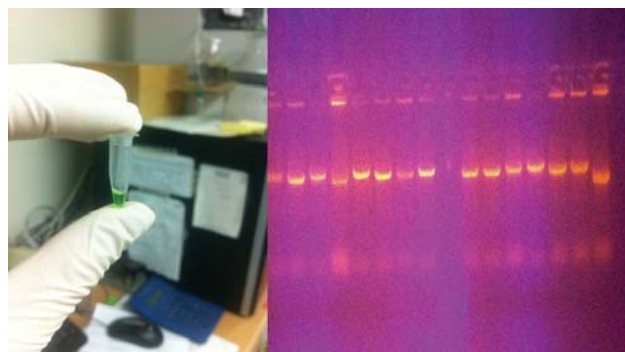


alge i cijanobakterije), no cijanobakterije su u prednosti pred ostalim skupinama u fitoplanktonu u iskorištavanju nutrijenata u uvjetima visoke temperature, niske razine kisika i prozirnosti te povećane količine nutrijenata (Rodgers, 2008.). Tradicionalno se koriste razne kemijske metode određivanja cijanobakterijskih toksina koje se svrstavaju u toksinske obitelji prema kemijskoj strukturi (Meriluoto et al., 2017.). Iz morskih cijanobakterija izolirane su brojne toksične komponente kao što su aplisiatoksin, debromoaplisiatoksin i lyngbyatoksin A (WHO, 2003.; Mynderse et al., 1977.; Fujiki et al. 1985.; Shimizu 1996.). U većini slučajeva morfološka determinacija cijanobakterijskih vrsta nije dovoljna kako bi se utvrdilo je li i toksična, budući da se mogu razviti sojevi s različitim stupnjem toksičnosti koji pripadaju istoj vrsti (WHO, 2003.).

### 2.3. Molekularne metode istraživanja cijanobakterija

Monitoring cijanobakterija najviše se oslanja na metodu svjetlosne mikroskopije koja je vremenski zahtjevnija te traži visoku razinu ekspertize (Kim et al., 2006.; Luo et al., 2014.). U potrazi za bržim i jeftinijim metodama monitoringa, sve se više okrećemo molekularnim metodama.

Cijanobakterije, kao i većina mikroorganizama, mogu biti problematične za uzgoj u čistim/akseničnim kulturama (Mandal et al., 2015.). Razlog leži u zajednicama koje cijanobakterije ostvaraju s mnogim arhejama i bakterijama tijekom milijardu godina svojeg postojanja, čime je izolacija u kulturi često vrlo teška (Alverenga et al., 2017.). Naime, heterotrofne bakterije su snažno povezane s cijanobakterijskom ovojnicom, a i tvari iz cijanobakterijskog mucilaža mogu stvoriti agregate s bakterijama, čime razni procesi pročišćavanja cijanobakterijske kulture završavaju neuspjehom (Vázquez-Martínez et al., 2004.; Sena et al., 2008.; Alverenga et al., 2017.). Metode na bazi sekvenciranja DNA pokazale su se uspješne u prevladavanju tog problema, jer se genetski materijal može izolirati iz okolišnog uzorka, čime je otvoreno novo polje istraživanja – metagenomika, poznata kao i okolišna genomika/ekogenomika/genomika zajednice (Mandal et al., 2015.). Prema Mandal et al. (2015.), molekularni alati mogu identificirati cijanobakterije istraživog područja koje druge metode ne mogu (mikroskopija, kemijske analize), dajući nam uvid u njihov genom, evoluciju vrsta i upotpunjavajući taksonomske odnose koji su prije bili zasnovani na morfološkim karakteristikama. Najbitnija je kvalitetno izolirana DNA na kojoj se radi sekvenciranje po Sangeru – *First generation sequencing* (Sanger et al., 1977., Mandal et al., 2015.) (slika 4), koje je u upotrebi zadnjih 30 godina (Alverenga et al., 2017.). Razne PCR metode, kao što je DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) i T-RFLP (*Terminal Restriction Length Polymorphism*) razvijene su kako bi analizirale mikrobne zajednice iz okolišnih uzoraka (Mandal et al., 2015.).



Slika 4: Rezultati umnožavanja ITS fragmeta iz cijanobakterija na agaroznom gelu prije sekvenciranja (snimila: A. Kolda)

Sredinom 2000-ih, tehnologije sekvenciranja sljedeće generacije (*engl.* Next generation sequencing, NGS) postale su sve zastupljenije zahvaljujući napretku informatičkih tehnologija, čime je omogućena obrada velike količine bioloških podataka uz značajno niže troškove, pogotovo u usporedbi sa Sanger metodom (Koboldt et al., 2013.; Alverenga et al., 2017.). Nedostatak NGS metoda, za razliku od Sanger metode, je što radi veći broj grešaka te daje kraće sekvence. Razvijene su brojne NGS platforme, kao što je Illumina, 454 (Roche), Ion Torrent (Life Technology) koje nude različita rješenja za nedostatke NGS sekvenciranja (Mandal et al., 2015.).

Unatoč prednostima metagenomskih tehnologija za proučavanje cijanobakterija, ovo područje susreće se s brojnim izazovima. Naime, cijanobakterijski genomi su zadnji po zastupljenosti u bazama podataka (0,6 %) u usporedbi s drugim bakterijama i arhejama, unatoč tome što se sve veći broj laboratorija bavi istraživanjima cijanobakterija. Također, one baze podataka koje postoje često imaju problema s provjerenom i točnom taksonomijom te nedostatkom podataka o okolišnim uvjetima (Alverenga et al., 2017.).

## 3. PRIMJERI ISTRAŽIVANJA CIJANOBAKTERIJA U VODENIM EKOSUSTAVIMA

### 3.1. Istraživanje cijanobakterija u mikrobnim obraštajima (*engl.* microbial mat)

Mikrobni obraštaji (*engl.* microbial mat) najstariji su ekosustavi na Zemlji i ekološki najuspješniji, zahvaljujući uspostavljanju stabilne i prilagodljive zajednice organizama (Awramik, 1976.; Green i Jahnke, 2010.; Bonilla-Rosso et al., 2012.). U hrvatskom jeziku ne postoji adekvatan prijevod za mikrobne obraštaje. Najbliži je pojam «biofilm», no radi se o dva ekosustava koja se ipak razlikuju i ne mogu se koristiti kao istoznačnice. Mikrobne obraštaje karakteriziraju vertikalno stratificirane bentičke zajednice funkcionalnih grupa mikroorganizama, koje rastu na čvrstom supstratu kao što su stijene, pijesak i drugi sedimenti

(Bolhuis et al., 2014.), dok se biofilmovi razvijaju na čvrstoj podlozi ili u vodi (de Beer i Köhl, 2001.). Iako se i jedan i drugi tip zajednice nalazi u ekstracelularnom matriksu (*engl.* extracellular polymeric substance, EPS), mikrobní obraštaj za razliku od biofilma sadži i gustu populaciju primarnih producenata (fotoautorofa) kao što su cijanobakterije i dijatomeje (Bolhuis et al., 2014.). Mikrobní obraštaji uspoređuju se sa drevnim stromatolitima, čiji fosilni ostatci datiraju 3,5 milijarde godina u prošlost Zemlje (Margulis et al., 1980.; Bolhuis et al., 2014.). Upravo su stromatoliti najbolji primjer mikrobníh obraštaja u kojima cijanobakterije predstavljaju vrlo važnu komponentu (Cohen i Gurevitz, 2006.; Alvarenga et al., 2017.). Osim cijanobakterija, mikrobní obraštaji mogu sadržavati niz drugih bakterijskih skupina, npr. purpurne sumporne bakterije i zelene sumporne bakterije te eukaritske organizme (najčešće dijatomeje) (Bolhuis et al., 2014.).

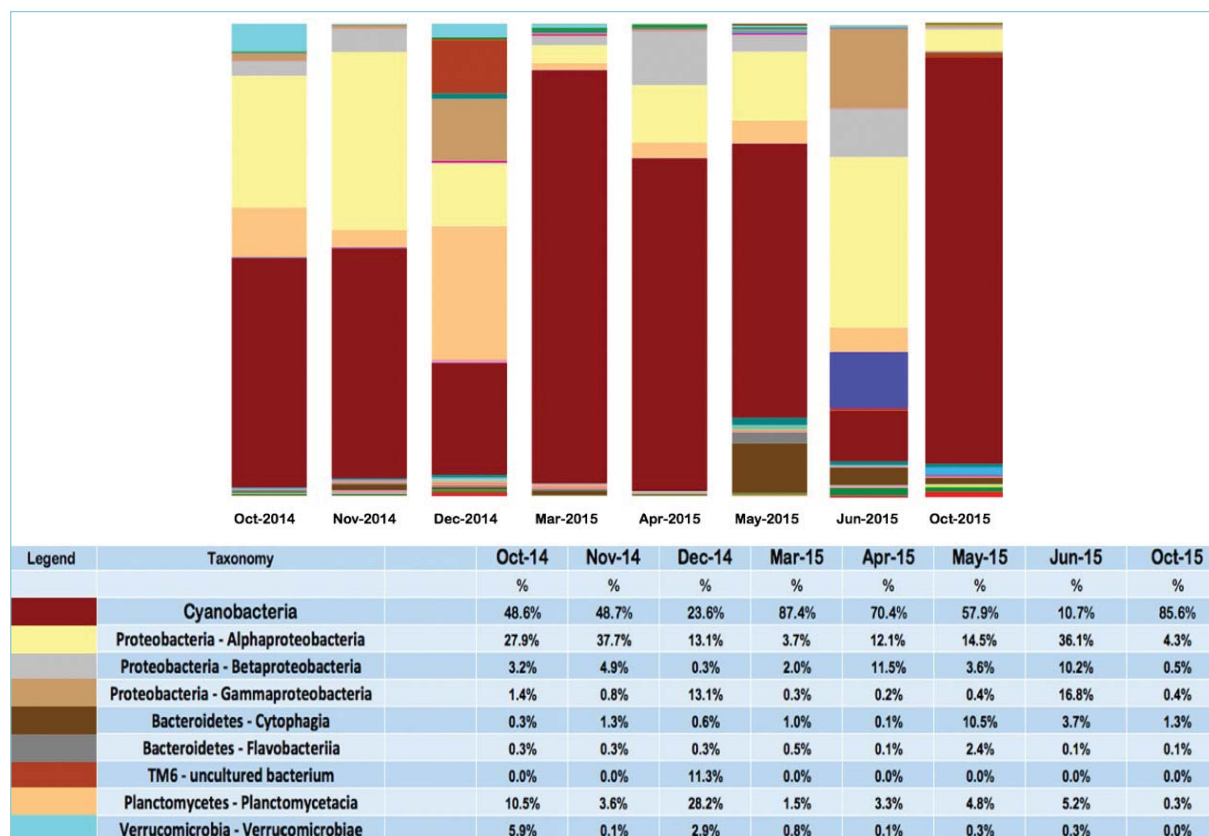
U najnovijim istraživanjima cijanobakterijskih mikrobníh obraštaja prevladavaju metagenomska istraživanja (Sneider et al., 2015.; White et al., 2015.; Bolhuis et al., 2014.; Bonilla-Rosso et al., 2012.). Metangenomika je za razliku od klasičnih molekularnih metoda neovisna o čistim kulturama i uzima tzv. okolišni uzorak (mikroorganizmi iz tla, vode itd.) iz kojeg se izolira tzv. okolišna DNA (Mandal et al., 2015.). U metagenomskim istraživanjima najvažniji filogenetski

marker je 16S rRNA, jer je prisutan u svim prokariotima, a sadži razne varijabilne regije, kao i vrlo konzervirane segmente koji se mogu različito koristiti, ovisno o odgovorima koje želimo dobiti.

Budući da uzgoj čiste cijanobakterijske kulture često predstavlja izazov, prednost metagenomskog istraživanja mikrobníh obraštaja je što se pomoću bioinformatičkih alata mogu uspješno spojiti (*engl.* assembly and binning) mikrobní genomi, neki djelomično, a neki čak u potpunosti iz neaksenične kulture (Sangwan et al., 2016.; Alvarenga et al., 2017.).

Iako se najčešće koristi DNA, preporučljiva je i analiza RNA, koja govori o metaboličkoj aktivnosti zajednice. Rezultati analize 16S rRNA te RNA transkripata mogu se uvelike razlikovati, budući da transkriptomika daje uvid u stvarnu količinu prepisanih gena, odnosno o tome koji dio zajednice je stvarno aktivan u mikrobnom obraštaju (Gierga et al., 2012.; Bolhuis et al., 2014.).

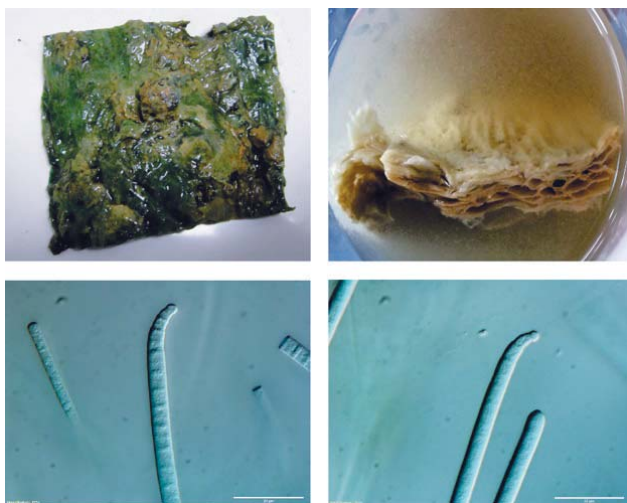
Dok u inozemstvu postoje brojna istraživanja o cijanobakterijskim mikrobnim obraštajima (Taton et al., 2003.; Bonilla-Rosso et al., 2012.; Schneider et al., 2014.; White et al., 2015.), u Hrvatskoj su tek u začetku. Kongresno izvješće Kolda et al. (2017.) (slika 5) prezentira preliminarno istraživanje u kojem je analizirana raznolikost cijanobakterija na krškom izvoru rijeke Krčić, poznatom po ekstremnim hidrološkim okolišnim uvjetima. Na uzorcima je napravljena analiza



Slika 5: Postotak dominantnih bakterijskih razreda kroz sezone 2014./2015. u cijanobakterijskom mikrobnom obraštaju, izvor Krčić (Kolda et al. 2017., kongresno priopćenje)

klonskih sekvenci ITS regije (sekvenciranje po Sangeru) te cjelokupne prokariotske zajednice koristeći 16S rRNA (Illumina MiSeq sekvenciranje), koji su dovedeni u korelaciju s hidrološkim uvjetima na Krčiću.

Također, u radu Žutinić et al. (2018.), na istom lokalitetu napravljena je molekularna i morfološka analiza cijanobakterija u mikrobnim obraštajima (slika 6) i njihova simbiotska veza s dijatomejama, a kao glavna uloga koju u tom ekosistemu imaju cijanobakterijski mikrobnj obraštaji je sklonište za amfipodnog beskralježnjaka roda *Synurella*.



Slika 6: Cijanobakterijski mikrobnj obraštaj i cijanobakterija *Phormidium favosum*, izvor Krčić (Žutinić et al., 2018.)

### 3.2. Istraživanje cijanobakterija u akvakulturi

Akvakultura je jedan od najbrže rastućih sektora u globalnoj ekonomiji koji danas osigurava gotovo polovicu svjetske količine ribe kao izvora proteina (The State of World Fisheries and Aquaculture, 2014.). Već 2014. g. akvakulturni sektor je prešao količinu ribe iz divljeg ulova, a uzimajući u obzir prognozu da će do 2050.g. broj ljudi na Zemlji iznositi 9 milijardi, rast te industrije će se nastaviti (The State of World Fisheries and Aquaculture, 2014.).

Problem cijanobakterijskog cvjetanja i cijanotoksina u akvakulturi je čest problem koji izaziva velike ekonomske štete te ima negativan utjecaj na zdravlje čovjeka i drugih životinja, kao i loš utjecaj na sam okoliš (Boyd, 1998.; Rodgers, 2008.; Sinden i Sinang, 2015.). Cijanotoksini mogu izazvati neurološka oštećenja (Metcalf i Codd, 2009.) i hepatološka oštećenja (Eriksson et al., 1988.; Sandström et al. 1990.). Također, produkti kao što su geosmin i 2-methyl isoborneol (MIB) šire neugodne mirise i daju pljesniv okus ribi (Tucker, 2000.; Sinden i Sinang, 2015.). Cvjetanje uzrokuje smanjenje kisika u vodenom stupcu na dva načina, plutajuće stanice na površini onemogućuju fotositezu fitoplanktona koji je zaslužan za obogaćivanje stupca

kisikom te velike količine mrtvih stanica tijekom razgradnje dodatno troše kisik. Osim na mortalitet ribe, cvjetanje i toksini uzrokuju kod ribe smanjen apetit i rast, a takva riba često nije dovoljne kvalitete za konzumaciju ili nije toksikološki ispravna (Rodgers, 2008.; Sinden i Sinang, 2015.).

Metode za detekciju i istraživanje ove problematike su razne, od kemijskih (spektrofotometrija, ionska kromatografija, praćenje fizikalno-kemijskih parametara *in situ*) (Sinden i Sinang, 2015.), molekularne (npr. PCR-DGGE) (Hurlburt et al., 2011.; Luo et al., 2014.) te mikroskopska analiza brojanjem, koja se standardno izvodi i uspoređuje s rezultatima ostalih analiza (Luo et al., 2014.).

Brojne studije su pokazale da je učestalost, intenzitet i duljina trajanja cijanobakterijskih cvjetanja na svjetskoj razini u porastu, kao rezultat eutrofikacije i globalnog zatopljenja (Elliott, 2011.; Huisman et al., 2018.). Stoga je i potreba za novim, bržim metodama detekcije velika, zbog velikog ekonomskog značaja, utjecaja na prehranu i zdravlje velikog broja ljudi te utjecaja na okoliš.

## 4. ZAKLJUČAK

U ovom su radu u kratko iznijete najvažnije informacije o cijanobakterijama i njihov utjecaj na okoliš i ljude te kojim se sve metodama istraživanja koriste u otkrivanju ovih fascinirajućih organizama. Koliko još o njima ne znamo, govori i najnovije otkriće objavljeno u vodećem znanstvenom časopisu Science (Nürnberg et al., 2018.), da su cijanobakterije sposobne fotosintetizirati i u infracrvenom dijelu spektra. Danas živimo u dobu velikih klimatskih promjena i čestog velikog izumiranja organizama. Antropogenim zahvatima na okoliš pospješili smo pojavu sve ekstremnijih klimatskih uvjeta na Zemlji, koji cijanobakterijama, organizmima starim gotovo 3 milijarde godina, jednostavno više odgovaraju. Zanimljivo je koliko smo nespremni odgovoriti na probleme cvjetanja cijanobakterija i koliko još, unatoč brojnim istraživanjima, o njima ne znamo. No ono što je sve jasnije i znanstvenoj zajednici i industriji i ono što se nadamo da se može iščitati iz redaka ovog rada, je neprocjenjiva važnost bioraznolikosti i očuvanog okoliša kao mehanizma ograničavanja ovog prirodnog fenomena koji se sve češće javlja.

## ZAHVALA

Ovaj je rad napisan u sklopu projekta AQUAHEALTH - Mikrobna ekologija voda kao pokazatelj zdravstvenog stanja okoliša (IP-2014-09-3494) financiranog od Hrvatske zaklade za znanost. Zahvaljujemo se recenzentima na komentarima i prijedlozima koji su doprinijeli kvaliteti rada. ■



## LITERATURA

- Adams, D.G. (2000.): Symbiotic Interactions. U *The Ecology of Cyanobacteria*, 523–61. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Nizozemska
- Adams, D.G.; Bergman, B.; Nierzwicki-Bauer, S.A.; Duggan, P.S.; Rai, A.N.; Schüssler, A. (2013.): Cyanobacterial-Plant Symbioses. U *The Prokaryotes*, 359–400. Springer, Berlin Heidelberg, Njemačka
- Alvarenga, D.O.; Fiore, M.F.; Varani, A.M. (2017.): A Metagenomic Approach to Cyanobacterial Genomics. *Frontiers in Microbiology* 8 (5), 1–16.
- Awramik, S.M. (1976.): Gunflint stromatolites: microfossil distribution in relation to stromatolite morphology. U: *Stromatolites*, M. R. Walter (Ed.), Elsevier, Amsterdam, Nizozemska
- Babin, M.; Stramski, D. (2002.): Light Absorption by Aquatic Particles in the near-Infrared Spectral Region. *Limnology and Oceanography* 47 (3): 911–15.
- Banack, S. A.; Metcalf, J.S.; Jiang, L.; Craighead, D.; Ilag, L.L.; Cox, P.A. (2012.): Cyanobacteria Produce N-(2-Aminoethyl)Glycine, a Backbone for Peptide Nucleic Acids Which May Have Been the First Genetic Molecules for Life on Earth. *PLoS ONE* 7(11):e49043
- Barrick, J. E.; Yu, D.S.; Yoon, S.H.; Jeong, H.; Oh, T.K.; Schneider, D.; Lenski, R. E.; Kim, J.F. (2009.): Genome Evolution and Adaptation in a Long-Term Experiment with *Escherichia Coli*. *Nature* 461 (7268): 1243–47.
- Bauer K.; Díez B.; Lugomela C.; Seppälä S.; Borg A.J.; Bergman B. (2008.): Variability in Benthic Diazotrophy and Cyanobacterial Diversity in a Tropical Intertidal Lagoon. *FEMS Microbiology Ecology* 63 (2): 205–21.
- Bellinger, E. G.; Sigeo D.C. (2016.): *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, Velika Britanija
- Bergman, B.; Rai, A.N.; Rasmussen, U. (2007.): Cyanobacterial Associations. U *Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*, 257–301. Springer, Dordrecht, Nizozemska
- Billler, S.J.; Berube, P.M.; Lindell, D.; Chisholm, S.W. (2015.): From *Prochlorococcus*: the structure and function of collective diversity. Box 1: *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: what's in a name?. *Nature Reviews Microbiology* 13, 13–27
- Bolhuis, H.; Cretoiu, M.S.; Stal, L.J. (2014.): Molecular ecology of microbial mats. *FEMS Microbial Ecology* 90 (2), 335 – 350
- Bresciani, M.; Giardino, C.; Bartoli, M.; Tavernini, S.; Bolpagni, R.; Nizzoli, D. (2011.): Recognizing Harmful Algal Bloom Based on Remote Sensing Reflectance Band Ratio. *Journal of Applied Remote Sensing* 5 (1)
- Bresciani, M.; Giardino, C.; Lauceri, R.; Matta, E.; Cazzaniga, I.; Pinardi, M.; Lami, A. (2017.): Earth Observation for Monitoring and Mapping of Cyanobacteria Blooms. Case Studies on Five Italian Lakes. *Journal of Limnology*, 76 (1s): 127-139
- Callieri, C.; Cronberg, G. and Stockner, J. (2012.): Freshwater Picocyanobacteria: Single Cells, Microcolonies and Colonial Forms. In: *Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*, 2nd ed. (ed. B. Whitton), Springer Publishers, pp. 229–269.
- Cohen Y.; Gurevitz, M. (2006.): The cyanobacteria – Ecology, physiology and molecular genetics, in *The Prokaryotes*. Springer N. Y. pp. 1074–1098.
- Coyler, C.L.; Kinkade, C.S.; Viskari, P.J.; Landers, J.P. (2005.): Analysis of cyanobacterial pigments and proteins by electrophoretic and chromatographic methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(3):559–69
- Dvořák, P.; Casamatta, D.A.; Pouličková, A.; Hašler, P.; Ondřej, V.; Sanges, R. (2014.): "Synechococcus : 3 Billion Years of Global Dominance." *Molecular Ecology* 23 (22): 5538–51.
- Elmerich, C.; Newton, W.E. (2007.): *Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. Springer, Dordrecht, Nizozemska
- Eriksson, J.E.; Meriluoto, J.A.O.; Kujari, H.P.; Österlund, K.; Fagerlund, K.; Hallbom, L. (1988.): Preliminary Characterization of a Toxin Isolated from the Cyanobacterium *Nodularia Spumigena*. *Toxicon* 26 (2): 161–66
- FAO (2014.): *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rim, Italija
- Finni, T.; Kononen K.; Olsonen, R.; Wallstrom, K. (2001.): The History of Cyanobacterial Blooms in the Baltic Sea. *A Journal of the Human Environment* 30(4–5):172–178
- Flombaum, P.; Gallegos, J.L.; Gordillo, J.F.; Rincón, J.; Zabala, L.L.; Jiao, N.; Karl, D.M.; et al. (2013.): Present and Future Global Distributions of the Marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (24). 9824–29.
- Fujiki, H.; Ikegami, K.; Hakii, H.; Suganuma, M.; Yamaizumi, Z.; Yamazato, K.; Moore, R.E., Sugimura, T. (1985.): A Blue-Green Alga from Okinawa Contains Aplysiatoxins, the Third Class of Tumor Promoters. *Japanese Journal of Cancer Research: Gann* 76 (4): 257–59.
- Fujiki, H.; Sueoka, E.; Suganuma, M. (1996.): Carcinogenesis of microcystins. In: Watanabe M., Harada K., Carmichael W., Fujiki H., ed. *Toxic Microcystis*, CRC Press, Boca Raton, SAD
- Gilerson, A.; Gitelson, A.; Zhou, J.; Gurlin, D.; Moses, W.; Ioannou, I.; Ahmed, S. (2010.): Algorithms for Remote Estimation of Chlorophyll-a in Coastal and Inland Waters Using Red and near Infrared Bands. *Optics Express* 18 (23): 24109–25.
- Gitelson, A.; Dall'Olmo, G.; Moses, W.; Rundquist, D.C.; Barrow, T.; Fisher, T.R.; Gurlin, D.; Holz, J. (2008.): A Simple Semi-Analytical Model for Remote Estimation

- of Chlorophyll-a in Turbid Waters: Validation. *Remote Sensing of Environment* 112 (9): 3582–93.
- Gons, H.J.; Hakvoort, H.; Peters, S.W.M.; Simis S.G.H. (2005.): Optical Detection of Cyanobacterial Blooms. U *Harmful Cyanobacteria*, 177–99. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, Njemačka
- Gurlin, D.; Gitelson, A.; Moses, W.J. (2011.): Remote Estimation of Chl-a Concentration in Turbid Productive Waters – Return to a Simple Two-Band NIR-Red Model?. *Remote Sensing of Environment* 115 (12): 3479–90.
- Hulburt, B.K.; Brashear S.S.; Zimba, P.V. (2011.): Detection of Cyanobacteria in Closed Water Systems in Southern Louisiana (USA). *WATER* 3, 79–86
- Ito H.; Tanaka, A. (2011.): *Evolution of a divinyl chlorophyll-based photosystem in Prochlorococcus*, PNAS, 108: 44, 18014–18019
- Jeffrey, S.W.; Mantoura, R.F.C.; Wright, S.W. (1997.): Phytoplankton pigments in oceanography – Guidelines to modern methods. UNESCO Publishing, Paris, Francuska
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., Johansen J.R. (2014.): Taxonomic Classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacterial Genera) 2014, Using a Polyphasic Approach. *Preslia* 86 (4): 295–335.
- Kolda, A.; Petrić, I.; Žutinić, P.; Mejdandžić, M.; Goreta, G.; Gottstein, S.; Ternje, I.; Gligora Udovič, M. (2017.): Environmental conditions shaping microbial mat community of the karst spring. *15<sup>th</sup> Symposium on Aquatic Microbial Ecology Abstract Book*, Zagreb
- Koonin, E.V. (2009.): Evolution of Genome Architecture. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 41 (2): 298–306.
- Kruk, C.; Huszar, V.L.M.; Peeters, E.T.H.M.; Bonilla, S.; Costa, L.; Lurling, M., et al. (2010.): A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*, 55, 614–627.
- 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 (2). Springer, Nizozemska
- Luo, W.; Chen, H.; Lei, A.; Lu, J.; Hu, Z. (2014.). Estimating Cyanobacteria Community Dynamics and Its Relationship with Environmental Factors. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11 (1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 1141–60.
- Ljubešić, Z.; Mejdandžić, M.; Bošnjak, I.; Bosak, S. (2016.): Comparing methods in picoplankton abundance estimation. Rapport du Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Mediterranee, 41. 278–278.
- Mandal, S.D.; Panda, A.K.; Bisht, S.S., Kumar, N.S. (2015.): Microbial Ecology in the Era of Next Generation Sequencing. *Next Generat Sequenc & Applic.*, S1
- Margulis, L.; Barghoorn, E.S.; Ashendorf, D.; Banerjee, S.; Chase, D. F.; Giovannoni, S.; Stolz, J. (1980.): The microbial community in the layered sediments at Laguna Figueroa, Baja California, Mexico – Does it have precambrian analogs. *Precambrian Res* 11: 93–123.
- Meriluoto, J.; Spoof, L.; Codd, G. A. (2017.): *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research (Organization), John Wiley & Sons, Chichester, Velika Britanija
- Metcalfe, J.S.; Codd, G.A. (2009.): Cyanobacteria, neurotoxins and water resources: are there implications for human neurodegenerative disease?. *Amyotroph Lateral Scler.*, 10 suppl. 2:74–78
- Mihaljević M. i Stević F., (2011.): Cyanobacterial blooms in a temperate river-floodplain ecosystem: the importance of hydrological extremes. *Aquat. Ecol.*, 45, 335–349.
- Mihaljević, M.; Stević, F.; Špoljarić, D.; Pfeiffer Žuna, T. (2014.): Spatial pattern of phytoplankton based on the morphology-based functional approach along a river-floodplain gradient. *River Res. Appl.*, 31(2)
- Mihaljević, M.; Stević, F.; Špoljarić, D.; Pfeiffer Žuna, T. (2014.): Application of Morpho-Functional Classifications in the Evaluation of Phytoplankton Changes in the Danube River. *Acta Zoologica Bulgarica*. 66:153–158
- Mynderse, J.S.; Moor, R.E.; Kashiwagi, M.; Norton, T.R. (1977.): Antileukemia activity in the Oscillatoriaceae: Isolation of debromoaplysia toxin from Lyngbya. *Science*, 196: 538–540.
- Nürnberg, D.J.; Morton, J.; Santabarbara, S., Telfer, A., Joliot, P.; Antonaru, L.A.; Ruban, A.V.; Cardona, T.; Krausz, E.; Boussac, A.; Fantuzzi, A.; Rutherford, A.W. (2018.): Photochemistry beyond the red limit in chlorophyll f-containing photosystems. *Science*, 360: 6394, 1210–1213
- Ochoa de Alda, J.A.G.; Esteban, R.; Diago, M.L.; Houmard, J. (2014.): The Plastid Ancestor Originated among One of the Major Cyanobacterial Lineages. *Nature Communications* 5 (9): 4937.
- O'Neil, J.M.; Davis, T.W.; Burford, M.A.; Gobler, C.J. (2012.) The Rise of Harmful Cyanobacteria Blooms: The Potential Roles of Eutrophication and Climate Change. *Harmful Algae* 14 (2): 313–34.
- Paerl, H.W. (2012.): Marine Plankton. U *Ecology of Cyanobacteria II*, 127–53. Springer, Dordrecht, Nizozemska
- Pozdnyakov, D. V.; Grassl, H. (2003.): *Colour of Inland and Coastal Waters : A Methodology for Its Interpretation*. Springer i Praxis Publishing, Chichester, Velika Britanija
- Reynolds, C. S. (2006.): *The Ecology of Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University, Velika Britanija
- Reynolds, C. S.; Huszar, V.; Kruk, C.; Naselli-Flores, L.; Melo, S. (2002.): Towards a Functional Classification of the Freshwater Phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24 (5). Oxford University Press: 417–28.



- Rodgers, J.H. (2008.): Algal Toxins in Pond Aquaculture. *Southern Regional Aquaculture Center Publication* No. 4605
- Roy, S. (2011.): *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy, and Applications in Oceanography*. Cambridge University Press, Cambridge, Velika Britanija
- Salmaso N. i Padisak J. (2007.): Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia*, 578, 97–112.
- Salmaso, N.; Naselli-Flores, L.; Padisak, J. (2015.): Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshwater Biology* 60, 603–619
- Sandström, A.; Glemarec, C.; Meriluoto, J.A.; Eriksson, J.E.; Chattopadhyaya, J. (1990.): Structure of a Hepatotoxic Pentapeptide from the Cyanobacterium *Nodularia Spumigena*. *Toxicon*, 28 (5): 535–40.
- Sangwan, N.; Xia, F.; Gilbert, J.A. (2016.) Recovering complete and draft population genomes from metagenome datasets. *Microbiome*, 4:8
- Schirrmeister, B.E.; Sanchez-Baracaldo, P.; Wacey, P.D. (2016.). Cyanobacterial Evolution during the Precambrian. *International Journal of Astrobiology* 15 (3): 187–204.
- Sena, L.; Rojas, D.; Montiel, E.; Gonzáles, H.; Moret, J.; and Naranjo, L. (2008.): A strategy to obtain axenic cultures of *Arthrospira* spp. cyanobacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1045–1053.
- Shimizu, Y. (1996.): Microalgal metabolites: A New Perspective. *Annual Review of Microbiology* 50 (1): 431–65.
- Sinden, A.; Sinang, S.C. (2015.): Presence and abundance of Cyanobacteria in selected aquaculture ponds in Perak, Malaysia and the relationships with selected physicochemical parameters of water. *Jurnal Teknologi* 76 (1): 187–194
- Singh, R. K.; Tiwari, S.P.; Rai, A.K.; Mohapatra, T.M. (2011.): Cyanobacteria: An Emerging Source for Drug Discovery. *The Journal of Antibiotics* 64 (6): 401–12.
- Solbrig, O.T. (1993.): Plant traits and adaptive strategies: their role in ecosystem function. In: *Biodiversity and Ecosystem Function* (Eds E.D. Schulze & H.A. Mooney), 97–116. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin
- Stanier, R.Y.; Bazine, G.C. (1977.): Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology* 31 (1): 225–74.
- Stal, L.J. (2012.): Cyanobacterial mats and stromatolites. *The Ecology of Cyanobacteria II. Their Diversity in Space and Time* (Whitton BA, ur.), 65–125. Springer, Nizozemska
- Stević, F.; Mihaljević, M.; Špoljarić Maronić, D. (2013.): Changes of phytoplankton functional groups in a floodplain lake associated with hydrological perturbations. *Hydrobiologia* 709(1)
- Svirčev, Z.; Tokodi, N.; Drobac, D. (2017.): Review of 130 years of research on cyanobacteria in aquatic ecosystems in Serbia presented in a Serbian Cyanobacterial Database. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1)
- Svirčev, Z.; Tokodi, N.; Drobac, D.; Codd, G.A. (2014.): Cyanobacteria in aquatic ecosystems in Serbia: Effects on water quality, human health and biodiversity. *Systematics and Biodiversity* 12(3)
- Šilović, T.; Ljubešić, Z.; Mihanović, H.; Olujić, G.; Terzić, S.; Jakšić, Ž.; Viličić, D. (2011.): Picoplankton composition related to mesoscale circulation on the Albanian boundary zone (Southern Adriatic) in late spring. *Estuarine coastal and shelf science*, 91, 519–525.
- Tenaillon, O.; Barrick, J.E.; Ribeck, N.; Deatherage, D.E.; Blanchard, J.L.; Dasgupta, A.; Wu, G.C., et al. (2016.): Tempo and Mode of Genome Evolution in a 50,000-Generation Experiment. *Nature* 536 (7615): 165–70.
- Vázquez-Martínez, G.; Rodríguez, M.H.; Hernández-Hernández, F.; Ibarra, J.E. (2004.): Strategy to obtain axenic cultures from field-collected samples of the cyanobacterium *Phormidium animalis*. *J. Microbiol Methods*. 57(1):115–21.
- Viličić, D.; Ljubešić, Z. (2017.): Razvoj metoda istraživanja fitoplanktona u Jadranskom moru. *Hrvatske vode* 25 (99): 49–58
- Voća, N. (2015.): Izvješće o stanju okoliša u Republici Hrvatskoj 2014. Agencija za zaštitu okoliša, Zagreb, Hrvatska
- Whitton, B.A.; Potts, M. (2012.): Introduction to the Cyanobacteria. U *Ecology of Cyanobacteria II*, 1–13. Springer, Dordrecht, Nizozemska
- Whitton, B. A.; Potts, M. (2000.): *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Springer, Dordrecht, Nizozemska
- World Health Organization. 2003. *WHO | Guidelines for Safe Recreational Water Environments*. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/srwe1/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/srwe1/en/)
- Žutinić, P.; Sviličić Petrić, I.; Gottstein, S.; Gligora Udovič, M.; Kralj Borojević, K.; Kamberović, J.; Kolda, A.; Plenković-Moraj, A.; Ternje, I. (2018.): Microbial mats as shelter microhabitat for amphipods in an intermittent karstic spring. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, 419:7, 1–13.

### Cyanobacteria research methods in water ecosystems

**Abstract.** Cyanobacteria are the oldest photosynthetic organisms on earth. They are exceptionally interesting due to their structure and their role in the evolutionary processes of eukaryotic cell creation. They are present in a number of habitats that are frequently characterized by extreme living conditions. They fill numerous ecological niches and significantly contribute to the circulation of elements in nature. Cyanobacteria are called the "pioneers" because they are the first to settle in inhospitable environments. Cyanobacteria research in water ecosystems frequently poses a challenge to different scientific areas. Numerous methods are implemented, from chemical, biological or ecological methods to the most advanced molecular methods and optical monitoring via satellites. The paper presents two examples of cyanobacteria research - in a microbial mat, where they occur as an important photoautotrophic component, and in aquaculture, where their blooms and toxins may cause adverse consequences to human and ecosystem health and material damage as well.

**Key words:** cyanobacteria, research methods, cyanobacterial blooms, microbial mat, aquaculture

### Methoden zur Erforschung von Cyanobakterien in Wasserökosystemen

**Zusammenfassung.** Cyanobakterien sind die ältesten photosynthetischen Organismen auf der Erde. Sie sind wegen ihres Aufbaus und ihrer Rolle in den Evolutionsvorgängen der Entstehung der eukaryotischen Zelle interessant. Sie kommen in verschiedenen Habitaten vor, die oft durch extreme Lebensbedingungen charakterisiert sind. Sie füllen zahlreiche ökologische Nischen und tragen dem Stoffkreislauf in der Natur bei. Cyanobakterien werden auch Pioniere genannt, weil sie als erste ungastfreundliche Habitate besiedeln. Die Erforschung von Cyanobakterien in Wasserökosystemen ist oft eine Herausforderung für verschiedene Wissenschaftsgebiete. Zahlreiche Methoden werden angewandt, von chemischen, biologischen und ökologischen Methoden bis zu modernsten Molekularmethoden und Satellitenüberwachung. In diesem Beitrag werden zwei Beispiele der Erforschung von Cyanobakterien dargestellt: in der Mikrobenmatte (*Eng. microbial mat*), wo sie eine wichtige photoautotrophe Komponente sind, und in der Aquakultur, wo die Blüte und Toxinen der Cyanobakterien negative Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit und das Ökosystem haben sowie materielle Schäden verursachen können.

**Schlüsselwörter:** Cyanobakterien, Forschungsmethoden, Blüte der Cyanobakterien, Mikrobenmatte, Aquakultur