

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Sladana S. Popović

**DIVERZITET AEROFITSKIH CIJANOBAKTERIJA I
ALGI U BIOFILMU ODABRANIH PEĆINA U
SRBIJI**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Sladana S. Popović

**DIVERSITY OF AEROPHYTIC CYANOBACTERIA
AND ALGAE IN BIOFILM FROM SELECTED
CAVES IN SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor:

dr **Gordana Subakov Simić**, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Članovi komisije:

dr **Jelena Krizmanić**, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

dr **Olivera Krunić**, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet

Datum odbrane: _____

Doktorska disertacija realizovana je na Katedri za algologiju, mikologiju i lihenologiju Instituta za botaniku i botaničke bašte „Jevremovac“, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Koristim priliku da se zahvalim svim kolegama i koleginicama sa katedre na pomoći i lepim trenucima.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj izuzetnoj mentorki prof. dr Gordani Subakov Simić na velikoj podršci tokom izrade doktorske disertacije, ohrabrenju, usmeravanju, podsticanju istraživačkog duha, korisnim savetima, ukazanom poverenju i volji i pomoći u svakom trenutku.

Takođe se zahvaljujem dr Jeleni Krizmanić na maksimalnoj posvećenosti tokom identifikacije silikatnih algi i sugestijama koje su pozitivno uticale na kvalitet disertacije. Zahvalnost takođe dugujem Danijeli Vidaković i Olgi Jakovljević.

Prof dr Oliveri Krunić se zahvaljujem na korisnim savetima, velikoj pomoći i volji da uvek izade u susret, kao i njenom saradniku Vladimиру Šarabi.

Prof dr Milici Ljaljević Grbić i njenim saradnicima Milošu Stuparu, Nikoli Unkoviću i Željku Savkoviću se zahvaljujem na kreativnim idejama i aktivnom učešću u određenim delovima studije, čija je stručnost znatno doprinela kvalitetu publikacija.

*Prof dr Aleksandri Korać se zahvaljujem na neizrecivoj upornosti prilikom rada na analizi nove vrste za nauku, cijanobakterije *Nephrococcus serbicus*, kao i njenim saradnicima Igoru Goliću, Maji Bogdanović i Aniti Lazarević.*

Prof dr Kristini Šarić dugujem zahvalnost za pokazano interesovanje i korisne informacije vezane za uzorke stena, kao i strpljivom radu na uzorcima.

Takođe se zahvaljujem dr Milki Vidović, direktorki Centra za ekologiju i tehnokonomiku NU IHTM na podršci tokom izrade i pisanja doktorske disertacije kao i svim kolegama iz IHTM. Posebnu zahvalnost dugujem Ani Pantelić i Željki Milovanović.

Veliku zahvalnost dugujem Prof. RNDr. Jiří Komáreku iz Češke Republike na bezrezervnoj pomoći prilikom opisa nove vrste cijanobakterija, ali i na pomoći prilikom identifikacije problematičnih taksona. Zahvalnost dugujem takođe i DCC timu (Jeffrey Johansen, Jan Kaštovský i Tomáš Hauer) koji su se maksimalno potrudili da nam problematiku identifikacije cijanobakterija iznesu na najbolji način. Takođe se zahvaljujem profesorima Jan Lepšu i Petr Šmilaueru čiji je Canoco statistički program otvorio mnoga nova vrata u istraživanjima.

Srdačno se zahvaljujem svim kolegama i prijateljima koji su izašli u susret prilikom terenskih istraživanja pećina na teritoriji Srbije, posebno JP "Srbijašume" Beograd i ŠG "Timočke šume", kao i upravljačima svih pećina, ali i Vojislavu Simiću, Darku Draguloviću, Bojanu Gavriloviću na pomoći oko uzorkovanja, kao i baki iz Visoke bez koje neverovatna Božanina pećina ne bi bila otkrivena.

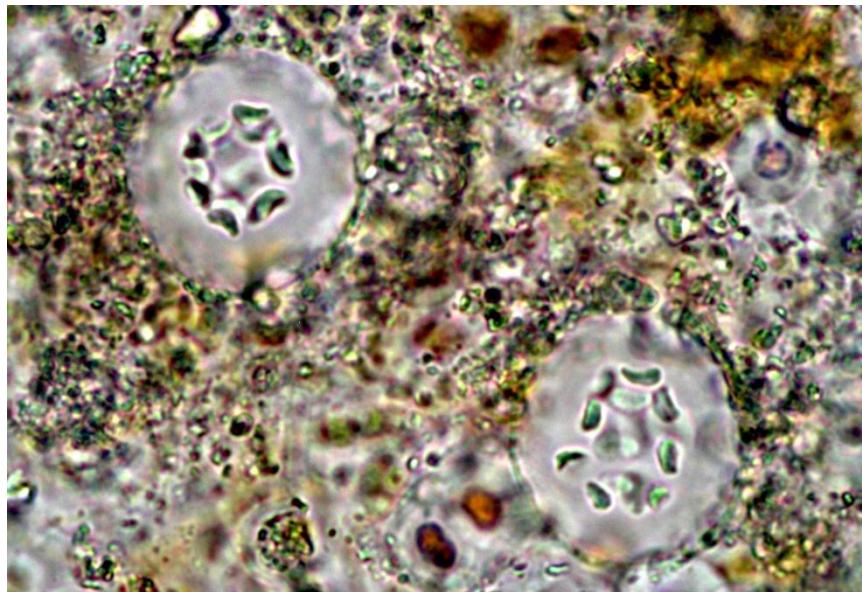
*Dragim Svetama i Molerima, Jeleni Jovanović, Dragani Predojević, Ivani Trbojević, Ani Blagojević, Ani Andjelković (koja je imala volje da pročita celu doktorsku disertaciju), Miljani Jakovljević, Dragani Antonijević,
svim ostalim dragim prijateljima, Sneži, Jeleni, Isidori, Antoniji, Ivani, Nataši
Vama Zago i tebi teta Rado,*

dugujem ogromnu zahvalnost na podršci, pomoći, ohrabrenju i što ste uvek bili uz mene.

Disertaciju posvećujem svojim roditeljima, mami Gordani i tati Stevu, kao i sestri Dragani koji su me uvek podržavali i bez čije pomoći i podstrela koji me je naveo da obidem obližnje pećine, doktorat ne bi krenuo u ovom smeru. Hvala im na beskrajnoj podršci, razumevanju, ljubavi i veri koju su imali u moj uspeh.

The cave you fear to enter holds the treasure you seek

Joseph Campbell



Diverzitet aerofitskih cijanobakterija i algi u biofilmu odabranih pećina u Srbiji

Sažetak

Predmet ove doktorste disertacije je analiza zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi iz biofilma sa stenovitog supstrata ulaza petnaest odabralih pećina iz Srbije kao i nekoliko tačaka u blizini veštačkog osvetljenja. Akcenat istraživanja bio je na fototrofnim mikroorganizmima iz biofilma, dok su kao dodatak endolitski predstavnici identifikovani iz nekoliko uzoraka stene. Analizirana je i morfologija, stepen razvijenosti biofilma, kao i ideo sadržaja vode, organske i neorganske materije u biofilmu. U svim pećinama, mereni su ekološki parametri i određene su primarna produkcija (preko koncentracije hlorofila *a*) i petrografska analiza stenovitog supstrata. Na odabranim uzorcima rađena je kvantitativna i sezonska analiza cijanobakterija i algi. Statističke analize su poslužile kao alat za sagledavanje odnosa zabeleženih fototrofnih mikroorganizama i različitih ekoloških i opisnih parametara.

Zabeleženo je prisustvo ukupno 290 taksona cijanobakterija i algi koje su svrstane u 4 razdela: Cyanobacteria (134 taksona, od kojih 82 taksona pripada kokoidnim formama), Bacillariophyta (129 taksona), Chlorophyta (26 taksona) i Xanthophyta (1 takson). Najveći broj taksona Cyanobacteria zabeležen je u rodovima *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeothece*, *Leptolyngbya* i *Scytonema*. U razdelu Bacillariophyta se izdvajaju rodovi *Luticola* i *Humidophila*, a u razdelu Chlorophyta rod *Cosmarium*.

Iz biofilma Božanine pećine opisana je nova vrsta cijanobakterije za nauku, *Nephrococcus serbicus* S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, *sp. nov.* pri čemu je sam rod po prvi put zabeležen na teritoriji Evrope.

Cyanobacteria po broju taksona dominiraju na svim lokalitetima, osim Rćanske i Bogovinske pećine. Najveći broj pripadnika Bacillariophyta i Chlorophyta zabeležen je u Rćanskoj (usled prisustva vode na biofilmu) i pećini Samar (zbog sezonskog uzorkovanja). Upravo se značaj sezonskog uzorkovanja biofilma u pećinama Samar i Jezava pre svega ogleda kroz znatno veći diverzitet aerofitskih cijanobakterija i algi u odnosu na druge pećine.

Predstavnici Cyanobacteria dominirali su u pećinama čiji je supstrat rekristalizali i organogeni krečnjak, a Bacillariophyta na klastičnom i mikritskom krečnjaku.

U dobro razvjenim, želatinoznim biofilmovima dominirale su cijanobakterije. U tankom sloju biofilma na stenovitom supstratu dominirale su zelene alge ukoliko su biofilmovi bili suvi, odnosno silikatne alge ukoliko su bili vlažni.

Vrednosti ekoloških parametara na svakoj tački uzorkovanja dovedeni su u vezu sa lokacijom pećine, morfologijom i veličinom pećinskog ulaza, godišnjim i dnevnim variranjima meteoroloških činilaca. Vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha bile su prilično ujednačene na nivou pojedinačne pećine, dok su vrednosti intenziteta svetla pokazale varijacije i zavisnost u odnosu na blizinu tačke uzorkovanja ulazu, kao i njene ekspoziciju.

Koncentracija hlorofila *a*, kao i sadržaj vode, organske i neorganske materije bili su korelisani sa dobro razvijenim biofilmom na ulazima pećina i biofilmom na horizontalnoj površini. Sezonska analiza biofilma u odabranim pećinama pokazala je da odnos vrednosti parametara u biofilmu zavisi od sezone, što se najviše odrazilo na sadržaj vode. Vrednosti hlorofila *a* bile su više u hladnijim mesecima.

Najveća vrednost biomase je u Degurićkoj pećini izračunata na mestu gde je visok sadržaj vode, kao i viša koncentracija hlorofila *a*, a u pećini Vernjikica na mestu gde je zabeležen i visok sadržaj organske materije.

Ključne reči: pećine, biofilm, fototrofni mikroorganizmi, aerofitske cijanobakterije, aerofitske alge, *Nephrococcus serbicus*, biomasa, stenoviti supstrat, krečnjak

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Algologija

UDK broj: 581.91/.92:581.96:[582.232+582.26][551.435.84+552.54](497.11)(043.3)

Diversity of aerophytic cyanobacteria and algae in biofilm from selected caves in Serbia

Abstract

The aim of this PhD thesis is the analysis of the aerophytic cyanobacterial and algal community from biofilm developed on stone substrate at the entrance of fifteen selected caves from Serbia and several sites near the artificial light in caves. The focus of the study was on phototrophic microorganisms from the biofilm, while endolithic representatives were additionally identified from several stone samples. Morphology, degree of biofilm development, as well as the content of water, organic and inorganic matter in biofilm were also observed. At all sampling sites, ecological parameters, primary production (through concentration of chlorophyll *a*), as well as petrographic analysis of rocky substrates were measured and determined. Quantitative and seasonal analyzes of cyanobacteria and algae were assessed in selected samples. Statistical analyzes have served as a tool for examining the relationship between recorded phototrophic microorganisms and various ecological and descriptive parameters.

A total of 290 cyanobacterial and algal taxa were recorded and classified into 4 divisions: Cyanobacteria (134 taxa, of which 82 taxa belong to the coccoid forms), Bacillariophyta (129 taxa), Chlorophyta (26 taxa) and Xanthophyta (1 taxon). The highest number of cyanobacterial taxa was documented within the following genera: *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeothece*, *Leptolyngbya* and *Scytonema*. *Luticola* and *Humidophila* were the most diverse genera within Bacillariophyta division, while in Chlorophyta *Cosmarium* had the highest number of species.

A new cyanobacterial taxon, *Nephrococcus serbicus* S. Popović, G. Subakov Simić & J. Komárek, *sp. nov.*, was described from a biofilm sample of Božana Cave. This also represents the first record of the genus *Nephrococcus* in Europe.

Cyanobacteria were dominant in all caves, except Rćanska and Bogovinska cave. The largest number of Bacillariophyta and Chlorophyta was recorded in the Rćanska cave (due to the presence of water on samplins sites) and in the Samar Cave (due to seasonal sampling). The significance of the seasonal biofilm sampling in Samar and Jezava caves is primarily reflected through the higher diversity of aerophytic cyanobacteria and algae in comparison to other caves.

Representatives of Cyanobacteria dominated in caves in which substrate was characterized as recrystallized and organogenic limestone, while representatives of Bacillariophyta prevailed in biofilm developed on clastic and micritic limestone.

In well-developed, gelatinous biofilms, Cyanobacteria were dominant. In thin biofilm layer on stone substrate, green algae were dominant if the biofilm was dry, while diatoms prevailed if water was present on biofilm.

The values of the ecological parameters that were measured at each sampling site were related to the cave location, the morphology and the size of the cave entrance, annual and daily fluctuations of meteorological parameters. The values of temperature and relative humidity were fairly uniform in each cave, while the light intensity varied and was dependant on the proximity of the sampling site to the cave entrance, as well as its exposure.

The concentration of chlorophyll *a*, as well as the biofilm parameters (water content, content of organic and inorganic matter) was correlated with well-developed biofilms at the cave entrances and biofilm on horizontal surfaces. Seasonal analysis of biofilms in selected caves showed that the ratio of the biofilm parameters was dependent on the season, which mostly affected the water content. The values of chlorophyll *a* were higher in colder months of the year.

The largest cyanobacterial and algal biomass in Degurić cave was at the sampling site where high content of water in the biofilm and higher concentration of chlorophyll *a* were recorded, and for Vernjikica cave, the largest biomass was recorded at sampling site with high content of organic matter.

Key words: caves, biofilm, phototrophic microorganisms, aerophytic Cyanobacteria, aerophytic algae, *Nephrococcus serbicus*, biomass, stone substrata, limestone

Scientific field: Biology

Scientific subfield: Algology

UDC number: 581.91/.92:581.96:[582.232+582.26][551.435.84+552.54](497.11)(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Aerofitske cijanobakterije i alge	1
1.1.1. Aerofitske cijanobakterije i alge – opšte karakteristike	1
1.1.2. Cijanobakterije	2
1.2. Biofilm.....	3
1.2.1. Biofilm – definicija i opšte karakteristike.....	3
1.2.2. Biofilm – Ekstracelularne polimerne supstance (EPS).....	4
1.2.3. Kolonizacija supstrata i formiranje biofilma.....	6
1.3. Faktori koji utiču na rast i razvoj aerofitskih cijanobakterija i algi.....	8
1.3.1. Karakteristike supstrata.....	9
1.3.2. Dostupnost vode.....	10
1.3.3. Dostupnost nutrijenata.....	12
1.3.4. Temperatura vazduha i podloge.....	13
1.3.5. Intenzitet svetlosti i sunčeve zračenje.....	14
1.4. Stene i karst.....	15
1.4.1. Definicija stena, sedimentne stene i njihove karakteristike.....	15
1.4.2. Karst.....	18
1.4.2.1. Karst i proces karstifikacije.....	18
1.4.2.2. Podela i geomorfološke karakteristike karsta.....	20
1.4.2.2.1. Speleološki objekti (jame i pećine).....	22
1.4.2.3. Rasprostranjenje karsta u Srbiji.....	24
1.5. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenovitim površinama.....	27
1.5.1. Aerofitske cijanobakterije i alge na prirodnim stenovitim površinama i građevinskim konstrukcijama.....	27
1.5.2. Životne forme aerofitskih cijanobakterija i algi na stenovitim površinama.....	28
1.5.3. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenama i proces deterioracije....	29
1.5.4. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenama i proces kalcifikacije....	31
1.6. Aerofitske cijanobakterije i alge u pećinskim staništima.....	31
2. CILJEVI RADA.....	37

3. MATERIJAL I METODE.....	39
3.1. Opis istraživanih pećina.....	39
3.1.1. Božanina pećina.....	40
3.1.2. Ribnička pećina.....	41
3.1.3. Hadži Prodanova pećina.....	42
3.1.4. Degurićka pećina.....	43
3.1.5. Rćanska pećina.....	44
3.1.6. Pećina Vernjikica.....	45
3.1.7. Pećina kod Sove.....	46
3.1.8. Lazareva pećina.....	47
3.1.9. Bogovinska pećina.....	48
3.1.10. Mandina pećina.....	49
3.1.11. Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravljia.....	50
3.1.12. Prekonoška pećina.....	51
3.1.13. Petnička pećina.....	52
3.1.14. Pećina Samar.....	54
3.1.15. Pećina Jezava.....	55
3.2. Odabir tačaka uzorkovanja.....	56
3.3. Merenje ekoloških parametara.....	57
3.4. Prikupljanje uzoraka.....	57
3.4.1. Metoda adhezivne trake.....	57
3.4.2. Uzorkovanje biofilma skalpelom.....	58
3.4.3. Uzorkovanje biofilma skalpelom za kvantitativne analaze biofilma..	59
3.4.4. Uzorkovanje endolitskih cijanobakterija i algi.....	60
3.4.5. Uzorkovanje stenovitog supstrata.....	60
3.5. Određivanje koncentracije hlorofila <i>a</i>	60
3.6. Određivanje sadržaja vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu.....	62
3.6.1. Određivanje sadržaja vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu po jedinici površine	62
3.6.2. Procentualni ideo vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu.....	63

3.7. Kvalitativna analiza cijanobakterija i algi.....	64
3.7.1. Priprema mikroskopskih preparata – adhezivna traka.....	66
3.7.2. Priprema mikroskopskih preparata – privremeni i polutrajni preparati sa glicerinom.....	66
3.7.3. Priprema uzoraka i pravljenje trajnih preparata silikatnih algi.....	67
3.8. Izolovanje endolitskih algi iz stenovitog supstrata.....	69
3.9. Kvantitativna analiza cijanobakterija i algi iz odabralih uzoraka biofilma.....	70
3.9.1. Određivanje brojnosti (abundance) cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma.....	70
3.9.2. Određivanje biomase cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma....	71
3.10. Skening elektronska mikroskopija (SEM) i energetsko disperzivna spektroskopija (EDS).....	72
3.11. Konfokalna laser skenirajuća mikroskopija (CLSM).....	73
3.12. Međunarodni Kod Nomenklature za alge, gljive i biljke.....	73
3.13. Petrografska analiza stenovitog supstrata.....	74
3.14. Statistička obrada podataka.....	74
4. REZULTATI.....	76
4.1. Pregled tačaka uzorkovanja.....	76
4.2. Vrednosti ekoloških parametara.....	87
4.3. Koncentracija hlorofila <i>a</i> u uzorcima biofilma.....	93
4.4. Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu.....	96
4.5. Taksonomski sastav cijanobakterija i algi.....	101
4.5.1. Božanina pećina.....	114
4.5.2. Ribnička pećina.....	115
4.5.3. Hadži Prodanova pećina.....	116
4.5.4. Degurićka pećina.....	117
4.5.5. Rćanska pećina.....	118
4.5.6. Pećina Vernjikica.....	119
4.5.7. Pećina kod Sove.....	120
4.5.8. Lazareva pećina.....	120
4.5.9. Bogovinska pećina.....	121

4.5.10. Mandina pećina.....	122
4.5.11. Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravlja.....	123
4.5.12. Prekonoška pećina.....	124
4.5.13. Petnička pećina.....	125
4.6. Sezonska dinamika zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma na primeru pećina Samar i Jezava.....	126
4.7. Kvantitativna analiza odabralih uzoraka biofilma	134
4.8. Rezultati analize uzoraka biofilma i endolitskih algi skening elektronskom mikroskopijom (SEM) i energetsko disperzivnom spektroskopijom (EDS).....	137
4.9. Opis nove vrste za nauku: <i>Nephrococcus serbicus</i> S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, <i>sp. nov</i>	141
4.10. Petrografska analiza.....	145
4.11. Statistička obrada podataka.....	152
5. DISKUSIJA.....	158
5.1. Ekološki parametri i njihov odnos sa fototrofnom zajednicom biofilma pećina.....	158
5.1.1. Vrednosti ekoloških parametara.....	158
5.1.2. Odnos ekoloških parametara i aerofitskih cijanobakterija i algi.....	160
5.2. Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu.....	163
5.3. Načini procene primarne produkcije i biomase fototrofnih mikroorganizama u biofilmu.....	164
5.3.1. Primarna produkcija i određivanje koncentracija hlorofila a u uzorcima biofilma.....	164
5.3.2. Određivanje brojnosti i biomase fototrofnih mikroorganizama u biofilmu.....	167
5.4. Biofilm i njegove karakteristike.....	170
5.4.1. Karakteristike biofilma, boja i izgled.....	170
5.4.2. Biofilm – skening elektron mikroskopija.....	174
5.4.3. Biofilmovi i diverzitet fototrofnih mikroorganizama.....	176
5.5. Taksonomski sastav cijanobakterija i algi.....	178
5.5.1. Pregled osnovnih grupa fototrofnih mikroorganizama.....	178

5.5.2. Cyanobacteria.....	180
5.5.2.1. Ekologija cijanobakterija.....	182
5.5.3. Bacillariophyta.....	184
5.5.4. Chlorophyta.....	186
5.5.5. Problem identifikacije aerofitskih cijanobakterija i algi.....	188
5.6. Sezonska analiza biofilma na primeru pećina Samar i Jezava	189
5.7. Odnos supstrata i zajednice fototrofnih mikroorganizama.....	191
5.8. <i>Nephrococcus serbicus</i> S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, sp. <i>nov.</i>	193
6. ZAKLJUČCI.....	196
7. LITERATURA.....	201
8. PRILOG.....	228
BIOGRAFIJA AUTORA.....	249

1. UVOD

1.1. Aerofitske cijanobakterije i alge

1.1.1. Aerofitske cijanobakterije i alge – opšte karakteristike

Cijanobakterije i alge su fototrofni mikroorganizmi koji su u najvećem procentu prilagođeni za život u različitim vodenim ekosistemima, pri čemu i najveći broj studija pokriva ova staništa sa različitih aspekata. Međutim, ove grupe mikroorganizama se mogu naći i u mnogim drugim tipovima staništa, od kojih se neka smatraju ekstremnim za njihov rast i razvoj, kada se uzmu u obzir specifični uslovi životne sredine koji u njima vladaju. Prema Lopez-Bautista i saradnicima (2007) jedna od grupa fototrofnih mikroorganizama koja je “najočiglednija, a ipak najčešće previđena i zanemarena”, jesu aerofitske alge. Aerofitske cijanobakterije i alge su oni fototrofni mikroorganizmi koji naseljavaju različite supstrate izložene vazduhu. Termin “aerofitske alge” prvi je upotrebio Petersen (1915), opisujući one alge koje većinu vode koja je potrebna za njihovo funkcionisanje dobijaju iz atmosfere (Pentecost i Whiton 2012). Prema nekim shvatanjima, Petersonova definicija više odgovara pojmu “subaerofitske alge”, dok bi aerofitski organizmi bili oni koji su suspendovani u atmosferi (Pentecost i Whiton 2012). Glavni problem sa kojim se ovi mikroorganizmi u aerofitskoj sredini suočavaju jeste čest nedostatak vode i povremeno isušivanje.

Aerofitske cijanobakterije i alge su zastupljene u svim klimatskim zonama, naročito u delovima sveta gde vladaju uslovi vlažne klime (Lopez-Bautista i sar. 2007). Studije o aerofitskim algama uglavnom potiču iz evropskih zemalja, a manje sa drugih kontinenata (Hauer i sar. 2015). Ove aerofitske zajednice sa prirodnih površina (na primer stene različitog tipa i sastava) se izrazito proučavaju u centralnoj Evropi, južnoj i severnoj Americi, Africi i Aziji. Sa druge strane, one koje se razvijaju na prirodnim i veštačkim pretežno stenovitim supstratima koji se uglavnom koriste u građevini veoma su interesantne za nauku u umerenim i tropskim regionima, zbog svog negativnog dejstva na građevinske konstrukcije i procesa biodeterioracije podloge. Taksoni koji kolonizuju različite biljke i koru drveća, najviše se proučavaju u Evropi, Africi, Aziji, južnoj i severnoj Americi. Podaci o ovoj zajednici fototrofnih mikroorganizama sa

drugih tipova supstrata su dostupni u znatno manjoj meri (Albertano 2012; Lopez-Bautista i sar. 2007).

Aerofitski fototrofni mikroorganizmi nisu dovoljno istraženi, tako da se ne može pouzdano govoriti o broju taksona koji ova staništa naseljavaju. Svakako, smatra se da je taj broj mnogo veći nego što se prepostavlja, jer se mnoge vrste još uvek otkrivaju i diverzitet se iz godine u godinu povećava. U dominantne grupe aerofitskih fototrofnih mikroorganizama ubrajaju se pre svega Cyanobacteria, ali se izdvajaju i Chlorophyta i Bacillariophyta. Razdeo Chlorophyta u aerofitskim staništima pre svega je predstavljen taksonima koji često ulaze u simbiozu sa gljivama formirajući lišajeve, ali ima i onih koji kolonizuju različite prirodne ili veštačke supstrate ili ulaze u sastav biofilmova. Smatraju se važnom grupom aerofitskih algi pre svega zbog značajnog udela u biomasi, ali takođe često mogu biti i prvi kolonizatori na nekim površinama. Predstavnici aerofitskih zelenih algi su uglavnom kokalne forme, čije ćelije imaju mali odnos površine u odnosu na zapreminu. Taksonomija je trenutno veoma problematična, ali se uveliko koriste molekularne metode kako bi se napravio zadovoljavajući sistem klasifikacije (Lewis 2007). Predstavnici razdela Bacillariophyta koji žive u aerofitskoj sredini su jedna mala specijalizovana grupa koja najčešće kolonizuje prostor između lišća mahovina, zemljišta ili vlažne površine stena. Adaptirane su na surovije uslove nego pripadnici u vodenim sredinama i kao i kod zelenih algi, aerofitski predstavnici uglavnom imaju manje ćelije (Tofilovska 2014).

1.1.2. Cijanobakterije

Cijanobakterije su fotosintetički prokarioti koji kolonizuju veliki broj osvetljenih staništa i uzimajući u obzir njihov kvantitet, jedni su od najznačajnijih organizama na planeti. Datiraju od pre više od 3,5 milijardi godina, što se zaključuje na osnovu postojanja stromatolita, fosila cijanobakterija i molekularnih podataka (Whitton i Potts 2012). Smatra se da su tokom zemljine istorije, kao najraniji kolonizatori, imale važnu ulogu u oblikovanju toka evolucije, kao i važne uloge u različitim ekološkim procesima (Lopez-Bautista i sar. 2007). Cijanobakterije predstavljaju pionirske mikroorganizme koji često prvi kolonizuju ogoljene površine, na kojima su često glavni primarni producenti (Piontek i Lechów 2014). Igraju važnu ulogu u mikrobijalnim zajednicama,

pri čemu ulaze i u simbiozu sa gljivama i drugim fototrofima. Specifične strategije omogućavaju im preživljavanje različitih stresnih uslova (Albertano 2012). Temperaturni optimum za mnoge cijanobakterije veći je za nekoliko stepeni u odnosu na eukariotske organizme (Hu i sar. 2012; Helm i Potts 2012). Takođe, veoma su tolerantna grupa mikroorganizama na isušivanje i nedostatak vode, a terestrične forme mogu da tolerišu visoke nivoje UV zračenja (Castenholz i Garcia-Pichel 2012), što je posledica dobro razvijenog ekstracelularnog omotača, koji pored zaštite od UV zračenja ima i veliki broj drugih funkcija (Albertano 2012; Pentecost i Whitton 2012). Veliki broj taksona ima sposobnost fiksacije atmosferskog azota, što im daje značajnu prednost u staništima koja karakteriše nedostatak nutrijenata (Stal 2012).

Aerofitske cijanobakterije se intenzivnije proučavaju tek od druge polovine dvadesetog veka. Do skora se smatralo da većina taksona cijanobakterija spada u kosmopolite i da postoji samo nekoliko retkih endemičnih vrsta. Međutim, novija istraživanja ne idu u prilog ovoj teoriji, pošto se iz različitih staništa, pogotovo aerofitskih, opisuje sve veći broj novih taksona (Lopez-Bautista i sar. 2007). Aerofitske cijanobakterije je obično veoma teško morfološki identifikovati, što se posebno odnosi na kokoidne predstavnike, pa se u poslednje vreme u cilju dobijanja preciznih podataka, kombinuju morfološke, ultrastrukturne, biohemijske i molekularne metode. Broj taksona aerofitskih cijanobakterija i algi nije poznat, pre svega zbog nerešenih problema u taksonomiji. Međutim, Hauer i saradnici (2015) pokušali su da daju pregled aerofitskih cijanobakterija koje naseljavaju stenovite površine (prirodne ili veštačke) širom sveta. Na osnovu podataka iz 180 stručnih publikacija, dokumentovali su 762 taksona aerofitnih cijanobakterija.

1.2. Biofilm

1.2.1. Biofilm – definicija i opšte karakteristike

Biofilmovi predstavljaju zajednice različitih grupa organizama (bakterije, cijanobakterije, alge, mahovine, gljive, lišajevi) koje se razvijaju na određenom supstratu i koje su zajedno uronjene u polisaharidni matriks (Donlan 2002). Ove zajednice autotrofnih i/ili heterotrofnih organizama oduvek su bile interesantne za

naku, kako u smislu ekologije i morfologije, tako i u smislu fiziologije i hemijskog sastava, što su sve parametri koji su veoma varijabilni kod različitih biofilmova. Biofilmovi u čiji sastav ulaze fototrofni mikroorganizmi se, na površinama na kojima se razvijaju najčešće, prepoznaju po tome što su živo obojeni (plavo, zeleno, sivo, braon, ljubičasto, crveno ili crno) kao posledica sinteze različitih pigmenata od strane algi, a naročito cijanobakterija (Albertano 2012). Pigmenti u ćelijama cijanobakterija i algi se razlikuju hemijski i sintetišu se u citoplazmi, ćelijskom zidu ili omotačima. Boja koja potiče od pigmenata ne mora da bude striktno zavisna od njihovog hemijskog sastava. Najpoznatiji pigmenti su hlorofil, koji daje zelenu boju, karotenoidi (karoten, ksantofili) koji su uglavnom žuti i fikobilini (fikocijanin, fikoeritrin) koji su plavi i crveni (Pinna i Salvadori 2008). Organizmi u biofilmovima su uronjeni u ekstracelularne polimerne supstance (EPS) koje su odgovorne za adheziju ovih zajednica za supstrat, za vezivanje mikroorganizama jednih za druge, ali i za akumulaciju vode, što je jako bitno za odvijanje normalne metaboličke aktivnosti organizama u biofilmu (Albertano 2012). Iz tog razloga biofilmovi na neki način štite sve one organizme koji se u njemu nalaze i olakšavaju im preživljavanje nepovoljnih i surovih uslova sredine koju naseljavaju (Prakash i sar. 2003). Mikroorganizmi koji ulaze u sastav biofilmova, nalaze se u svim mogućim fazama razvića, što im omogućava da se brzo prilagođavaju promenama uslova spoljašnje sredine (Roldán i Hernández-Mariné 2009). Pored ćelija mikroorganizama i EPS-a, u sastav biofilmova ulaze i razne organske i neorganske čestice koje tu dospevaju iz okolne sredine. Međutim, i veliki broj jedinjenja koja imaju različite funkcije takođe se sintetiše u samim biofilmovima, kao što su jedinjenja koja štite ćelije mikroorganizama od visokog intenziteta svetlosti, od fluktuacija u sadržaju vode ili nutrijenti koji su neophodni za rast mikrobijalnih zajednica (Albertano 2012).

1.2.2. Biofilm – Ekstracelularne polimerne supstance (EPS)

Mikroorganizmi u biofilmu sintetišu veliki broj polisaharida koji se mogu podeliti na: a) intracelularne, b) strukturne i c) ekstracelularne polisaharide ili egzopolisaharide (EPS) (Kumar i Mody 2009). Mikrobijalni egzopolimeri su mukozne sekrecije visoke molekulske težine i veoma složene strukture (Stal 2012; Kumar i Mody

2009). Njihova struktura varira među različitim organizmima, pa čak i jedan organizam može da proizvodi više vrsta EPS-a ili u isto vreme ili u različitim fazama rasta (Stal 2012). Kod najzastupljenijih fototrofa – cijanobakterija, sinteza ovih polisaharida je veoma složen proces koji i dan danas nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da je produkcija EPS-a ustvari fiziološki odgovor ćelija mikroorganizama na fluktuacije sredinskih uslova: time oni stvaraju neku optimalnu sredinu u kojoj rastu i razvijaju se, koja u isto vreme pozitivno utiče i na rast drugih organizama koji sa njima koegzistiraju u biofilmu. Prema Lange (1976) produkcija EPS-a posledica je nebalansiranog rasta ćelija koji je uzrokovan nedostatkom nutrijenata. Ukoliko nedostaju nutrijenti, naročito azot i sumpor, proteini se nedovoljno sintetišu, a proces fotosinteze se i dalje odvija, što vodi do skladištenja velike količine glikogena, koji se kao višak izlučuje u vidu mukoznog omotača (Stal 2012). Takođe, nepovoljni uslovi, kao što su nedostatak vode (dehidratacija) i izlaganje teškim metalima, utiču na pojačanu produkciju ovih polisaharida. Cijanobakterije produkuju uglavnom polisaharide visoke molekulske težine i različitih stepena želatinoznog stanja, što je pre svega posledica hemijskih karakteristika, ali i abiotičkih parametara, kao što su pH i prisutni joni. EPS cijanobakterija se donekle razlikuje od EPS-a drugih mikroorganizama: karakteriše se prisustvom sulfatnih grupa i uronskih kiselina, ali i prisustvom pentoza (ksiloza, arabinosa i ribosa) kojih kod drugih prokariota nema (Rossi i Philippis 2015). D-glukuronska kiselina, D-galakturonska kiselina i D-manuronska kiselina doprinose anjonskoj i lepljivoj prirodi ovih makromolekula. Pomenute uronske kiseline sadrže karboksilne grupe koje zbog svog negativnog nanelektrisanja imaju veliki afinitet za pozitivno nanelektrisane molekule i odgovorne su za interakcije sa drugim EPS molekulima, sa katjonima metala ili česticama sedimenta. Hemijske osobine omotača mogu biti zavisne od samog taksona cijanobakterija, ali i od sredinskih uslova (Stal 2012). Treba imati u vidu da pored cijanobakterija EPS produkuju i drugi fototrofni mikroorganizmi kao što su zelene alge *Coccomyxa*, *Gloeocystis*, *Mesotaenium*, ali i silikatne alge, kao na primer *Encyonema* i *Frustulia* (Ress 2012).

EPS su važna klasa biopolimera koji se karakterišu velikim brojem važnih uloga i funkcija. Imaju bitnu ulogu u komunikaciji ćelija i okruženja, kao i veliki ekološki značaj, pri čemu su odgovorni za funkcionalni i strukturni integritet biofilmova. Jednom od najvažnijih uloga može se smatrati sposobnost zadržavanja vode, a samim tim i

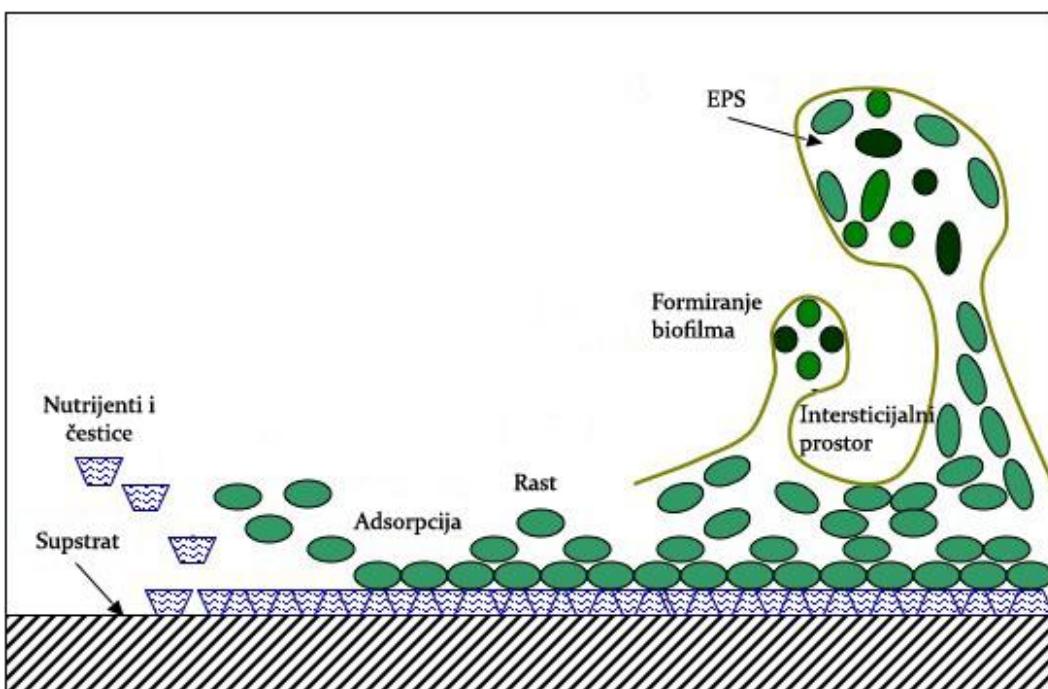
formiranje gela koji stabilizuje makromolekule i ćelije fototrofnih mikroorganizama, nakon čega organizmi mogu preživeti dug period suše formirajući vodonične veze sa proteinima, membranskim lipidima i DNK. Na primer, kao posledica zadržavanja vode, *Nostoc* može povećati prečnik kolonije od 50-100 µm do 150-250 µm. Takođe, taksoni koji produkuju EPS pozitivno utiču na mnoge druge mikroorganizme i pospešuju njihovu toleranciju na vodni stres (npr. *Chlorella*) (Rossi i Philippis 2015; Stal 2012). Uloge EPS-a prema Rossi i Philippis (2015) su:

- Adhezija i imobilizacija mikroorganizama
 - *Adhezija mikroorganizama određena je hidrofobnim karakteristikama EPS-a.*
- Zaštita od nepovoljnih abiotičkih faktora
 - *Uključuje zaštitu od isušivanja, UV zračenja, nepovoljnih fizičkih i hemijskih uslova, zaštitu od ispaše.*
- Pokretljivost mikroorganizama
 - *Sekrecija EPS-a dovodi se u vezu sa pokretljivošću ćelija mikroorganizama.*
- Skladište nutrijenata
 - *EPS vezuje različite čestice, a takođe je izvor ugljenika za heterotrofne mikroorganizme.*
- Struktura i deterioracija supstrata:
 - *Ekstracelularni matriks utiče na organizaciju čestica supstrata, njihovu stabilizaciju, ali može i da vezuje različite minerale i utiče na raspadanje supstrata tokom procesa sušenja/bubrenja.*

1.2.3. Kolonizacija supstrata i formiranje biofilma

Nastajanje biofilma je proces kojim kompleksna i raznovrsna zajednica mikroorganizama/organizama postaje učvršćena na nekom supstratu. Biofilm se može formirati na različitim površinama, pri čemu taj proces zavisi od tipa mikroorganizma, biologije, hemije i fizičkih karakteristika supstrata (Gu i Mitchell 2006), spoljašnjih uslova (temperatura, relativna vlažnost, svetlosni uslovi, nivo atmosferskog zagađenja,

veter i padavine), mikroklima i karakteristika specifičnih samo za taj određeni supstrat (Albertano 2012). Pasivno raznošenje vijabilnih ćelija cijanobakterija i algi vodom, vazduhom, ljudima ili životinjama (pticama, slepim miševima) je preduslov za formiranje aktivne populacije mikroorganizama na nekom određenim supstratu. Formiranje biofilma (Slika 1) počinje onog trenutka kada se organizmi pričvrste za određeni supstrat, pri čemu mehanizmi adhezije variraju u zavisnosti od vrste organizma i tipa supstrata.



Slika 1. Formiranje biofilma. (slika preuzeta sa https://en.wikipedia.org/wiki/Extracellular_polymeric_substance#/media/File:BiofilmFormation.jpg (29.03.2018)).

Prisustvo određenih struktura kod nekih algi može u velikoj meri doprineti uspešnoj kolonizaciji nekog supstrata, kao što je na primer prisustvo hormogonija i fotoreceptora kod taksona *Oculatella subterranea*. (Albertano 2012). Mikroorganizmi koji dospeju do izloženih površina, počinju da rastu, da se dele i da izlučuju ekstracelularne polimerne supstance (EPS) koje deluju kao zaštita, održavaju vlagu, omogućavaju vezivanje ćelija jednih za druge, vezivanje ćelija sa različitim česticama kao i vezivanje za supstrat (Macedo i sar. 2009). Zajednica počinje polako da se širi na toj podlozi, što omogućava i drugim mikroorganizmima da se inkorporiraju u ovaj matriks, zbog lepljivih svojstava EPS-a (Albertano 2012). Kada se biofilm u dovoljnoj

meri razvije, ciklusi sušenja i kvašenja mogu favorizovati odvajanje ćelija mikroorganizama iz biofilma dok je biofilm u suvom stanju, kada ćelije mikroorganizama vazdušnim strujama mogu dospeti i do visine od 10 km (Kumar i sar. 2007).

Fototrofni mikroorganizmi, cijanobakterije i alge, su obično primarni kolonizatori ogoljenih površina. To se pre svega odnosi na cijanobakterije, upravo zbog dobro razvijenog EPS-a koji doprinosi da okruženje bude strukturno stabilno, dobro hidratisano i zaštićeno od raznih negativnih uticaja, što je od velikog značaja za inkorporiranje drugih organizama, na primer algi i mahovina. Takođe, jedna od prednosti cijanobakterija je i sposobnost brzog prelaska iz aktivnog u pasivno stanje u zavisnosti od uslova koji vladaju u spoljašnjoj sredini. Cijanobakterije se obično nalaze u površinskim delovima biofilma zajedno sa drugim fototrofima, dok se heterotrofi nalaze dublje (Rossi i Philippis 2015; Stal 2012). Fotosintetska aktivnost mikroorganizama obogaćuje supstrat organskim ugljenikom, što uz različite čestice koje EPS lepi stvara mikrostanište bogato nutrijentima (Hauer i sar. 2015). Organska materija i metaboliti koje fototrofi produkuju služe kao hrana heterotrofnim organizmima (Ljaljević Grbić i sar. 2010). Međutim, nekada heterotrofi mogu biti prvi kolonizatori, što može imati i pozitivan uicaj na rast fotosintetičkih populacija. U ovom slučaju, heterotrofi koriste organsku materiju koja je prirodno prisutna u podlozi ili koja potiče od čestica iz vazduha, organskih isparenja, ekskretovanih metabolita itd. (Albertano 2012).

1.3. Faktori koji utiču na rast i razvoj aerofitskih cijanobakterija i algi

Aerofitski fototrofni mikroorganizmi, čija ekofiziologija još uvek nije u potpunosti proučena, su u vazdušnoj sredini izloženi ekstremnim uslovima koji imaju uticaj na fotosintezu, metaboličke aktivnosti i njihov rast. Ono što karakteriše sve aerofitske cijanobakterije i alge jeste naizmenično isušivanje. Iz tog razloga, surovi uslovi u kojima se ovi mikroorganizmi razvijaju se pre svega odnose na nedostatak vode, ali i otežanu dostupnost hranljivih supstanci i temperaturna kolebanja vazduha i podloge. Intenzitet svetlosti i dostupnost vode (relativna vlažnost vazduha) smatraju se najznačajnijim faktorima za njihov rast i razvoj, dok se temperatura vazduha i/ili

podloge smatra sekundarnim faktorom. Takođe, u procesu kolonizacije, bitne su i karakteristike supstrata (Cvijan i Fužinato 2011; Pentecost i Whitton 2012).

1.3.1. Karakteristike supstrata

Prisustvo biofilma na nekom supstratu rezultat je sukcesivne kolonizacije tog supstrata od strane različitih grupa mikroorganizama tokom dužeg vremenskog perioda. Proces kolonizacije bazira se na mogućnosti supstrata da obezbedi povoljno, zaštićeno stanište, u kome će mikroorganizmi moći da se razvijaju (Macedo i sar. 2009). Aerofitske površine podrazumevaju postojanje velikog broja veoma kompleksnih mikrostaništa koja mogu biti naseljena od strane fototrofnih mikroorganizama. Kolonizacija i razvoj cijanobakterija i algi na nekom supstratu pre svega zavisi od njegovih fizičkih karakteristika (tekstura, poroznost, higroskopnost i apsorpcija vode kapilarnim silama od strane stenovite podloge) (Guillitte 1995; Macedo i sar. 2009; Miller i sar 2006; Pinna i Salvadori 2008; Prieto i Silva 2005). Prema Gorbushina (2007), u inicijalnoj fazi kolonizacije tekstura supstrata je od ključnog značaja za zadržavanje ćelija mikroorganizama, ali i za njihovu proliferaciju. Na grubim, hrapavim i neravnim supstratima, kolonizacija mikroorganizama je izraženija nego na površinama koje su glatke, ravne ili uglačane. Te nesavršenosti površine supstrata, male pukotine, šupljine i prostori imaju veliki broj funkcija: zadržavaju vlagu, različite organske i neorganske čestice, nutrijente, a takođe omogućavaju i zaštitu od nepovoljnih uslova sredine (vetar, UV zračenje, ispaša). Na mikrotopografiju supstrata utiče najmanje šest nezavisnih faktora: sastav supstrata, veličina mineralnih zrna u steni, orijentacija i oblik zrna, priroda površine zrna, koja može varirati od glatke do nepravilne i ispucale, duboke pukotine na površini supstrata i prazni prostori kao što su oni koji se nalaze u peščaru i sunđerastoj kori drveća iz roda *Sambucus*. Prisustvo praznih prostora u steni ili drvetu omogućava dodatno zadržavanje vode, a takođe obezbeđuje i stanište za endolitske/endoksilne grupe cijanobakterija i algi. Kombinacija faktora, koji su iznad navedeni, može da rezultuje u formiranju kompleksne površine sa velikim brojem mikrostaništa koja se međusobno razlikuju kako fizički, tako i hemijski (Pentecost i Whitton 2012). Kao što se može primetiti, osim tekture, veoma bitan faktor je i poroznost, koja se definiše kao odnos zapremine praznih prostora i ukupne

zapremine supstrata (Pinna i Salvadori 2008). Mnogo teže se kolonizuju kompaktniji materijali kao što su bazalt i mermur, u odnosu na one poroznije. Međutim kod glatkih supstrata kolonizacija počinje posle izvesnog vremena kada spoljašnji faktori – vetar, padavine započnu proces deterioracije, nakon čega se formira mikro hrapava površina pogodna za kolonizaciju mikroorganizama (Keshari i Adhikary 2014). Još jedna fizička karakteristika supstrata koju je potrebno pomenuti je i higroskopnost, koja predstavlja meru kapaciteta supstrata da apsorbuje vodu (vodenu paru) kada je relativna vlažnost vazduha visoka, odnosno da otpušta vodu, kada je relativna vlažnost vazduha niska (Pinna i Salvadori 2008). Higroskopnost pored relativne vlažnosti vazduha i temperature zavisi od poroznosti, ali i od prečnika kapilara (sa povećanjem broja subkapilarnih pora, raste i higroskopnost (Bilbija i Matović 2009).

Pored fizičkih karakteristika supstrata, bitnu ulogu u njegovoj kolonizaciji igraju i brojni drugi faktori. Pored ekoloških faktora (vodni režim, temperatura i intenzitet svetlosti) bitne su i mikroklimatske karakteristike i specifične karakteristike samog lokaliteta (izloženost svetlu, arhitektonske osobine), kao i stepen bioreceptivnosti supstrata (Guillitte 1995; Macedo i sar. 2009; Miller i sar 2006; Pinna i Salvadori 2008; Prieto i Silva 2005). Nekada i orientacija supstrata može biti od značaja (Macedo i sar. 2009), a prema Hauer i saradnicima (2015) bitnu ulogu igra i nadmorska visina na kojoj se nalazi supstrat. Na razvoj mikroorganizama može uticati i pH podloge, pri čemu većina mikroorganizama preferira neutralne pH vrednosti. Cijanobakterije na primer preferiraju alkalno okruženje, pa će se uglavnom javljati na supstratima čija je pH vrednost viša (Hauer i sar. 2015). Što se tiče tipa supstrata (na primer tipa stene i njenog sastava), literaturni podaci često potvrđuju da nije moguće naći preciznu vezu između tipa supstrata i specifičnog organizma ili grupe organizama koji taj supstrat naseljavaju (Tomaselli i sar. 2000). Ipak, prema Gustavs (2010) neki autori su zabeležili preferenciju određenih taksona prema nekim supstratima, ali bez obzira na to, tip stene smatra se sekundarnim faktorom (Pinna i Salvadori 2008).

1.3.2. Dostupnost vode

Voda je neophodna kako za uspostavljanje zajednice aerofitskih fototrofnih organizama na nekom mestu, tako i za njihov rast i razvoj, pri čemu se njen nedostatak

smatra najstresnijim faktorom za ovu grupu mikroorganizama (Chang i sar. 2007). Voda čini 70 – 80% težine metabolički aktivnog organizma i pre svega je neophodna za pravilno funkcionisanje svih procesa i odvijanje svih funkcija u ćelijama mikroorganizama (Pinna i Salvadori 2008). Može biti dostupna iz različitih izvora: pre svega iz padavina u bilo kom obliku (kiša, sneg, rosa), može poticati iz zemljišta, može se usvajati iz vazduha ukoliko je relativna vlažnost vazduha visoka. Često se zajednice aerofitskih algi i cijanobakterija razvijaju na mestima koja se nalaze u blizini vodopada, tako da ih voda konstantno prska ili u senci šume (Pentecost i Whitton 2012). Petersen (1935) je dao podelu aerofitskih algi prema tome koji izvor vlage pretežno koriste, na osnovu koje su euaerofitske alge one alge koje se razvijaju na supstratima gde je dostupna samo atmosferska vlaga (objekti nisu u direktnom kontaktu sa podlogom), dok se pseudoaerofitske alge razvijaju na podlogama na koje voda može dospeti na ostale pomenute načine (Ress 2012). U pustinjama, aerofitske cijanobakterije i alge usvajaju vodu koja kondenuje preko noći, ali samo u ranu zoru imaju dovoljne količine vode za fotosintezu i pravilno odvijanje metaboličkih procesa. Zbog sezonskih variranja u količinama padavina i sadržaju vode, ali i variranja na dnevnoj bazi (što je pogotovo izraženo na aerofitskim staništima koja su potpuno izložena), u različitim vremenskim periodima biofilmovi mogu biti ili potpuno zasićeni vodom, periodično isušeni ili čak pretežno suvi i u situaciji da im voda potpuno nedostaje (Gustavs 2010). Naročito su surovi delovi godine kada je sunčev zračenje uglavnom visoko, a padavine izostaju, kada biofilmovi mogu biti u potpunosti isušeni i kada je potrebno da se ti periodi suše prežive duži vremenski period. Naravno, subaerofitske cijanobakterije i alge se sa ovim problemom bore različitim prilagođenostima. Pre svega, kao što je već napomenuto, mnogi taksoni, pogotovo taksoni cijanobakterija, formiraju omotače, odnosno sintetišu dobro razvijen EPS (Potts 1994) koji štiti ćelije od isušivanja, ali takođe održava i 3D strukturu kolonija i zajednica tokom ciklusa isušivanja. Takođe, u adaptacije spada i redukovavanje veličine ćelija, odnosno nizak nivo morfološke organizacije (Ress 2012), kao i nakupljanje osmotski aktivnih jedinjenja u ćelijama čime se otežava gubitak vode (Gustavs 2010). Ukoliko periodi suše traju dugo, fototrofni mikroorganizmi mogu imati poteškoće sa kompletiranjem životnog ciklusa, zbog čega obično prelaze u stanje mirovanja (Pentecost i Whitton 2012). Na primer, *Nostoc commune* je veoma otporan na isušivanje, može preživeti do 100 godina bez vode (Ress 2012). Takođe, neki drugi

faktori, kao na primer intenzitet svetlosti, vetar, temperatura i hemijsko okruženje na različite načine mogu uticati na vodni režim (Pentecost i Whitton 2012), a među njima se ističu temperatura i relativna vlažnost vazduha (Pinna i Salvadori 2008). Koliko će se voda zadržati na nekom supstratu, zavisi i od stope isparavanja, koja je usko vezana sa temperaturom (Gustavs 2010). Na stopu isparavanja uticaj ima i relativna vlažnost vazduha, pa ako je ona visoka, gubljenje vlage iz ćelija cijanobakterija i algi je usporeno (Cvijan i Fužinato 2011).

1.3.3. Dostupnost nutrijenata

Jedna od poteškoća sa kojom se suočavaju zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi jeste otežana dostupnost nutrijenata koji se u aerofitskim staništima nalaze u malim količinama. Prema Johansen (1999) dostupnost mineralnih supstanci može igrati veoma važnu ulogu u oblikovanju zajednica aerofitskih cijanobakterija i algi. Ove supstance aerofitske alge obično dobijaju iz vazduha taloženjem prašine i čestica koje potiču iz različitih izvora (između ostalog i industrijskih procesa) na podlogu na kojoj se biofilm razvija (Gorbushina 2007). Ipak, fototrofni mikroorganizmi dostupne mineralne supstance mogu koristiti samo u rastvorenom obliku, tako da je voda svakako neophodna. U našim klimatskim prilikama, posebno u letnjim mesecima, može se desiti da supstrat na kome se biofilm razvija bude danima ili nedeljama gotovo potpuno suv (Cvijan i Fužinato 2011). Pored taloženja čestica iz vazduha, nutrijenti na različite supstrate često dospevaju padavinama, kišom ili snegom, ili povremenim vodama koje trenutno prelivaju preko supstrata. Nutrijente koji dospevaju na biofilm vezuje EPS, ali neki nutrijenti se produkuju i interno, kao rezultat procesa fotosinteze i/ili degradacije polisaharida (Gustavs 2010). Heterotrofi u ovim zajednicama koristeći kao hranu lizirane ćelije fototrofa, imaju sposobnost da mineralizuju EPS koji onda opet pospešuje rast fototrofa (Pentecost i Whitton 2012).

Primarna funkcija nutrijenata je strukturalna, i oni koje mikroorganizmi zahtevaju u najvećim količinama su: ugljenik, kiseonik, vodonik, azot, sumpor, fosfor, zajedno sa magnezijumom, kalcijumom i kalijumom. Ostali elementi su ćelijama mikroorganizama potrebni u manjoj meri i zato nose naziv mikronutrijenti: hlor, gvožđe, bor, mangan, cink, bakar, nikl i molibden (Pinna i Salvadori 2008). Za aerofitske cijanobakterije

fosfor je ograničavajući faktor, pre svega zbog toga što mnogi taksoni mogu da fiksiraju atmosferski azot (Pentecost i Whitton 2012). Pomenute povremeno dostupne vode, koje do mesta na kojima se razvija biofilm prolaze šupljine stena, zemljište, kapilarnim silama kroz porozan supstrat itd., glavni su izvor ova dva nutrijenta, ali i mnogih drugih kao što su Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni i Zn (Mulec i sar. 2008). Određene nutrijente fototrofni mikroorganizmi usvajaju iz podloge, naročito ako je podloga krečnjak (primer su kalcijum i magnezijum koji se otpuštaju u kontaktu sa vodom). Natrijum i kalijum često u malim količinama postaju dostupni mikroorganizmima u slučajevima kada stene počnu da se raspadaju pod uticajem biofilma koji se na njima razvija, ali u mnogim krajevima izvor su aerosoli (pogotovo u blizini mora). Posle nekoliko ciklusa kvašenja i sušenja biofilma, količina ovih minerala može se povećati u tolikoj meri, da izazove stres u ćelijama aerofitskih cijanobakterija i algi (Pentecost i Whitton 2012).

1.3.4. Temperatura vazduha i podloge

Jedan od bitnih faktora za rast i razvoj aerofitskih fototrofnih mikroorganizama je temperatura vazduha i podloge. Temperatura ima uticaja na metaboličke i fiziološke procese koji se odvijaju u ćelijama mikroorganizama i pri povećanju temperature od 10 stepeni, udvostručava se brzina hemijskih reakcija. Fiziološka temperatura varira od 1 °C do 45 °C, pri čemu na temperaturama ispod 1 °C ćelijski sadržaj mrzne, a na onim iznad 45 °C dolazi do denaturacije enzima (Gustavs 2010). Optimalne temperature za rast mnogih organizama su između 20 °C – 30 °C. Međutim, kinetika enzima se zasniva na nekim drugim pravilima i za svaki enzim postoji zaseban optimum (Pinna i Salvadori 2008).

Temperturni režim zavisi od količine sunčeve radijacije koja dopire do određene podloge, što je opet posledica nadmorske visine, geografske širine i dužine, orijentacije supstrata, zasenčenja, vetra, kao i refleksije od strane supstrata (Gustavs 2010). Subaerofitske populacije cijanobakterija i algi, naročito onih koje naseljavaju stenovite površine, često trpe velika temperturna kolebanja (Pentecost i Whitton 2012). Temperatura vazduha značajno varira i dnevno i sezonski, ali su ta variranja kod temperature podloge još izraženija (na stenovitim površinama temperatura može varirati od -45° do +60 °C, Gorbushina 2007). Međutim, prisustvo vode na neki način može

ublažiti te ekstremne vrednosti temperature, jer vlažna stena kada je izložena suncu isparava, pri čemu se haldi (Pentecost i Whitton 2012). Ćelije mikroorganizama moraju biti u stanju da se veoma brzo adaptiraju na promene temperature, jer promena iz potpuno hidratisanog do skoro isušenog stanja može da se desi za nekoliko časova ili nekoliko minuta, što je nedovoljno za razvijanje mirujućih stadijuma. Tokom isušivanja podloge temperatura raste, ali stopa povećanja temperature zavisi od nekoliko faktora: sposobnost apsorpcije svetlosti od strane supstrata, toplotnog kapaciteta i toplotne provodljivosti (svojstvo materijala da prenosi toplotu). Na primer, za razliku od stenovitih površina, drvene površine imaju veći toplotni kapacitet i manju toplotnu provodljivost, kao i sposobnost da duže vremena zadrže toplotu (Pentecost i Whitton 2012). Od značaja je napomenuti da je toplotna provodljivost obrnuto proporcionalna poroznosti (Bilbija i Matović 2009). Bitan faktor je i boja supstrata, jer svetlijii supstrati, kao što je krečnjak, veliki deo sunčevog zračenja reflektuju, dok oni tamniji (npr. škriljac) većinu apsorbuju, pri čemu se i brže zagrevaju. Postoji veliki broj primera koji se odnose na prisustvo aerofitskih organizama na podlogama sa različitim temperaturnim režimima: na vulkanskom staklu na Islandu, kriptoendolitske alge su zabeležene pri temperaturi od 40°C , a na peščaru u Kanadi, endolitske cijanobakterije detektovane su na temperaturi od -19°C (Pentecost i Whitton 2012). Treba napomenuti da temperatura utiče na relativnu vlažnost vazduha, pri čemu se pri porastu temperature relativna vlažnost vazduha smanjuje i obrnuto (Pinna i Salvadori 2008).

1.3.5. Intenzitet svetlosti i sunčeve zračenje

Supstrati na kojima se razvijaju aerofitske cijanobakterije i alge veoma su raznoliki i mogu biti potpuno, delimično ili direktno izloženi sunčevom zračenju. Intenzitet svetlosti, kao i trajanje osvetljenosti, utiče na rast i razvoj fototrofnih mikroorganizama usporavajući ili ubrzavajući proces fotosinteze (Pinna i Salvadori 2008). Aerofitske cijanobakterije i alge su pod uticajem različitih i često varijabilnih svetlosnih uslova, pri čemu nekada iste forme mogu da žive na staništima koja su izložena jako visokom UV zračenju (na primer u pustinjama), ali i na mestima gde je intenzitet svetlosti veoma nizak – pećinska staništa (Pentecost i Whitton 2012). Kao odgovor na različit svetlosni režim, sintetišu se zaštitni pigmenti koji čelije

mikroorganizama štite od štetnog UV zračenja: scitonemin (zaštita od UV-A zračenja) i mikosporinske aminokiseline (MAAs), koje štite od UV-B zračenja (Ress 2012). U naučnim krugovima velika pažnja je posvećena proučavanju strukture, uloge, funkcije i potencijalne primene scitonemina koji se kod cijanobakterija akumulira u ekstracelularnim omotačima (Pattanaik i sar. 2007). Kod živih ćelija cijanobakterija scitonemin je u oksidovanom stanju, tako da se njegovo prisustvo prepoznaće po braon boji omotača. Pored scitonemina, kod nekih predstavnika kokalnih cijanobakterija (rod *Gloeocapsa*) zastupljen je pigment gleokapsin, koji varira od crvenih pa sve do plavih nijansi. Takođe, scitonemin i MAAs mogu doprinositi i zaštiti od isušivanja i uticati na reparaciju oštećenja koja su nastala u procesu dehidratacije (Wada i sar. 2013). Omotači cijanobakterija kod predstavnika koji naseljavaju jako osvetljena mesta su pigmentisani i jarko obojeni (crni, crveni, plavi, itd.) (Castenholz i Garcia-Pichel 2012). Međutim, ponekad se isto zapaža i kod predstavnika koji se nalaze na veoma zasenčenim površinama. Neki taksoni pigmente produkuju stalno, što može biti odgovor na niske stope rasta, pri čemu se ćelije izlažu UV radijaciji tokom dužih vremenskih perioda. Veliki broj predstavnika cijanobakterija u pećinama opstaje pri jako niskim vrednostima intenziteta svetlosti, pri čemu među njima ima pripadnika koji mogu da rastu miksotrofno ili skoro u potpunosti heterotrofno (Pentecost i Whitton 2012).

1.4. Stene i karst

1.4.1. Definicija stena, sedimentne stene i njihove karakteristike

Definicija petrologije, nauke koja se bavi proučavanjem stena, kao i podaci o podeli stena i njihovim osnovnim odlikama mogu se naći u brojnim publikacijama, kao što su na primer Best (2003), Bilbija i Matović (2009), Boggs (2009), Bonewitz (2008), Đorđević i saradnici (1991), Folk (1980), Philpotts (2003) i Protić (1984).

Stena predstavlja skup jednog ili više minerala određene strukture i teksture (sklopa) i određenog hemijskog sastava. Stene se klasificuju prema genezi u tri osnovna tipa – magmatske, sedimentne i metamorfne, a na osnovu razlika u teksturi, ali i u mineralnom sastavu, svaka od ovih grupa dodatno je izdeljena na podgrupe i tipove.

Sedimentne stene (među poznatim krečnjak i peščar) formiraju se na površini Zemlje složenim procesima koji obuhvataju površinsko raspadanje, transport, sedimentaciju i litifikaciju materijala dejstvom različitih fizičkih (gravitacija, vetar, led, fizičko dejstvo vode) i hemijskih agenasa (voda). Materijal koji će dati neku sedimentnu stenu potiče od ranije obrazovanih stena, koje procesom površinskog raspadanja daju dve vrste polaznog materijala: fragmenti (klasti) nastaju fragmentisanjem materijala procesima fizičkog raspadanja, dok se rastvor raspadanja formira hemijskim raspadanjem, odnosno, rastvaranjem materijala stene. Ove dve različite vrste materijala posle transporta, procesom litifikacije daju dve grupe sedimentnih stena: klastične i hemijske sedimentne stene. U procesu litifikacije klasti se međusobno vezuju vezivom (agregat mineralnih čestica) koji je u većini slučajeva kvarc, ali neretko kalcit i drugi karbonati, ali često i oksidi gvožđa, minerali gline, itd.

Struktura sedimentnih stena je posledica procesa koji su prethodili stvaranju jedne sedimentne stene i na osnovu odnosa, veličine, oblika zrna koji izgrađuju sedimentnu stenu i načina vezivanja, struktura može biti klastična, kristalasta, amorfna i organogena. Klastična struktura podrazumeva da je sedimentna stena izgrađena od fragmenata spojenih prirodnim vezivom i klasifikacija se uglavnom bazira na obliku fragmenata (zrna), njihovoj veličini i količini u odnosu na vezivo. Kristalasta struktura podrazumeva postojanje autigenih zrna (minerali koji su stvarani u isto vreme kada je sedimentna stena formirana, na primer kalcit u krečnjaku), koja su međusobno neposredno srasla, a razlika se pravi na osnovu veličine zrna i načina srastanja. Amorfne strukture su generalno nestabilne i karakterišu se trakastom građom i bubrežastim oblicima. Organogena struktura odnosi se na pojavu organskih (fossilnih) ostataka čija veličina, oblik i vrsta utiču na opšti izgled stene.

Tekstura sedimentnih stena se određuje na osnovu rasporeda čestica u masi stene (odnos pojedinih komponenti u prostoru i njihova orijentacija) i ispunjenosti prostora. Na osnovu ispunjenosti prostora, stena može biti kompaktna – masa stene je u celosti ispunjena čvrstom supstancom, porozna kada stena sadrži pore manjeg prečnika i porozno šupljikava kada sadrži šupljine pravilnog ili nepravilnog oblika. Na osnovu orijentacije mineralnih komponenti u sedimentacionim stenama tekstura može biti: homogena (odsustvo orijentacije mineralnih zrna), planparalelna (paralelna ili subparalelna orijentacija lističastih minerala), imbriaciona (paralelna orijentacija

spljoštenih valutaka) i brečasta (slučaj kod tekstonski polomljenih i ponovno vezanih sedimentnih stena). Slojevitost je jedna od glavnih teksturnih karakteristika sedimentnih stena. Na osnovu rasporeda čestica u stenskoj masi izdvajaju se homogena slojevitost (ujednačena granulacija u celoj debljini sloja), gradaciona slojevitost (rezultat brze sedimentacije), kosa slojevitost (prekidi ili variranja u sedimentaciji na nagnutim površinama) i laminacija (višestruko smenjivanje materijala različite krupnoće i boje).

Krečnjaci su veoma rasprostranjene sedimentne stene izgrađene samo ili pretežno od kalcijum karbonata. Međutim, sadrže različite primeše, pa prema prisutnoj primeси razlikujemo gvožđevite, manganovite, dolomitične (sadrže do 40% $MgCO_3$), glinovite (<5% gline), laporovite (5-25% gline), peskovite (sadrže zrna kvarca), bituminozne (prisutna organska materija), siliciozne (silicijum postoji u steni, autigeni je) i silifikovane krečnjake (silicijum naknadno dospeva u stenu).

Jedna od klasifikacija krečnjaka koja je najčešće u upotrebi je klasifikacija po Folk-u. Ona se bazira na određivanju relativnog udela karbonatnih zrna (alohema) i karbonatnog matriksa krečnjaka (ortohema), koji se deli na mikritski i sparitski. Mikrit predstavlja matriks, fini taloženi karbonatni materijal koji se sastoji od karbonatnih čestica manjih od 4 μm . Sa druge strane, sparit predstavlja bistre prozirne kristale kalcita koji su veći od 10 μm i za razliku od mikrita ne nastaje samo precipitacijom, već i kristalizacijom. Alohemski predstavljaju prinetu komponentu, odnosno karbonatna zrna koja se klasifikuju u više grupe, među kojima se razlikuju: fosili (celi ili iz delova), ooidi (mala sferična karbonatna zrna), peleti i peloidi (kuglasta, elipsoidna, valjkasta ili vretenasta karbonatna zrna veličine pretežno od 50-250 μm) i intraklasti (karbonatni sediment).

Čvrsta kompaktna stena u prirodi ne postoji, i u većini se u njoj nalazi deo zapremine koji nije ispunjen čvrstom fazom i koji se naziva porni prostor, a svojstvo stene kojim definišemo u njoj sadržani porni prostor naziva se poroznost. Poroznost može biti primarna (poroznost koja je nastala kada i sama stena, prilikom njenog formiranja) i sekundarna (koja nastaje u očvrsloj steni tokom kasnijih geoloških procesa). Oblik šupljina u stenama može biti veoma različit: mehurast, cevast, čelijast, u vidu kanalića koji povezuju šupljine, kraćih ili dužih pukotina, itd. Klasifikacija pora se zasniva na modelu veze između čvrste komponente stene i tečnosti u porama, kao i mogućnošću njenog kretanja. Veličina pora se kod različitih stena kreće u širokim

granicama, pa tako recimo kod karbonatnih stena postoje superkapilane pore (prečnik veći od 10^{-1} mm), kapilarne pore (prečnik između 10^{-4} mm i 10^{-1} mm), a pored njih postoje subkapilarne pore (2×10^{-6} mm do 10^{-4} mm, u kojima je voda praktično nepokretna i vezana za čvrstu komponentu stene) i mikropore sa prečnikom manjim od 2×10^{-6} mm koje sadrže jedino čvrsto vezanu vodu u vidu filma debljine jednog molekula). Prve dve veličine pora su najčešće u karbonatnim stenama. U superkapilarnim porama samo deo tečnosti je vezan za čvrstu komponentu, a deo koji je slobodan kreće se pod uticajem gravitacije. U kapilarnim porama veći je sadržaj vezane u odnosu na slobodnu vodu, jer je slobodno kretanje vode sprečeno kapilarnim silama. Ukupna zapremina svih šupljina u steni predstavlja absolutnu poroznost, ali je potrebno istaći da postoji i termin relativna – otvorena poroznost. Otvorena poroznost predstavlja one pore koje su dostupne vodi, odnosno predstavlja ukupnu zapreminu pora povezanih međusobno i sa spoljnom površinom. Poroznost je veoma bitna karakteristika bilo kog supstrata, jer od nje zavisi sadržaj prirodne vlage u stenama, kao i sposobnost upijanja, primanja i zadržavanja vode u porama, što je od velikog značaja pri kolonizaciji stena od strane različitih mikroorganizama.

1.4.2. Karst

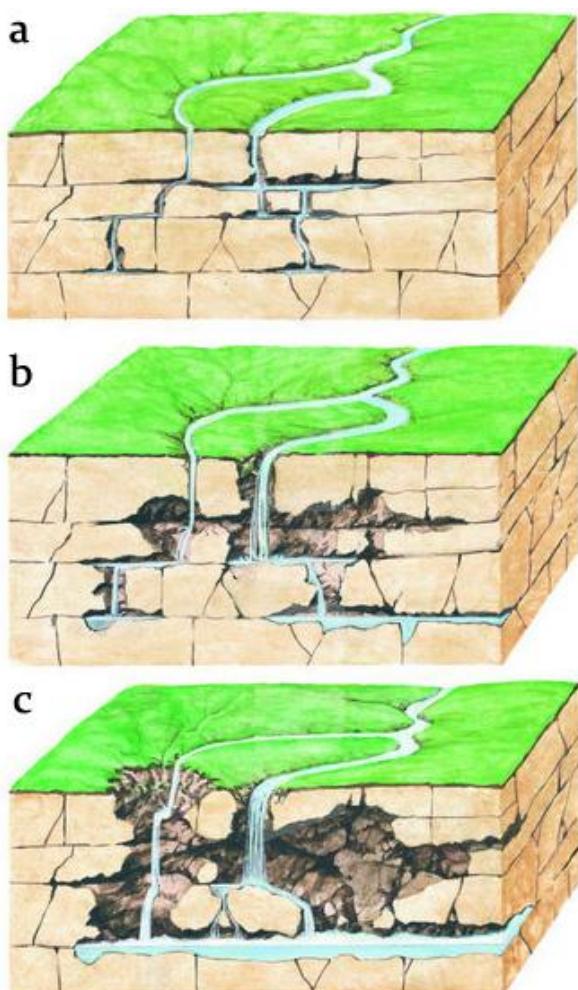
Termin “karst” je složen geološki pojam koji se odnosi na teren sa specifičnim hidrogeološkim, geomorfološkim i hidrološkim karakteristikama, odnosno teren izgrađen od krečnjaka, dolomita, halita, gipsa i ostalih rastvorljivih stena čije rastvaranje vodi do formiranja različitih oblika i pojava koje karstu daju karakterističan izgled. Na našim prostorima ovaj termin se pre svega odnosi na karbonatnu sredinu, naročito krečnjačke stene (Milanović 1979).

1.4.2.1. Karst i proces karstifikacije

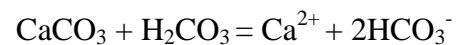
Karstifikacija je pojam pod kojim se podrazumeva kompleks geoloških procesa koji razaraju rastvorljive stene, čime se na površini formira specifična morfologija, a u podzemlju specifični hidrogeološki uslovi i specifičan tip poroznosti (međusobno

povezan sistem pukotina, karstnih kanala i kaverni najrazličitijih oblika i veličine, Milanović 1979).

Osnovni mehanizam karstifikacije je rastvaranje materijala stene, a glavni uzročnik rastvaranja kalcijum karbonata koji dolazi u kontakt sa vodom je dejstvo ugljene kiseline. Kišnica na putu do površine Zemlje apsorbuje atmosferski CO₂, kao i voda koja sa površine zemljišta otiče u dublje slojeve kroz pore i pukotine (Slika 2). Usled reakcije vode i CO₂ nastaje ugljena kiselina, koja spada u grupu slabih kiselina:



Ugljena kiselina rastvara kalcit polako i postepeno, pri čemu se vremenom formiraju pukotine, kanali, a na kraju i velike šupljine, odnosno prostori (Davies i Morgan 1991).



Reakcija je reverzibilna, pri čemu rastvorljivost krečnjaka zavisi od koncentracije ugljene kiseline (H₂CO₃), koja opet zavisi od koncentracije CO₂ u vodi (Milanović 1979).

Slika 2. Proces nastanka krečnjačkih pećina. (slika preuzeta sa

Hemijska reakcija na karbonatnoj površini je veoma kompleksna. Prvo, vodonični jon mora da bude adsorbovan na karbonatnoj površini. Kada se jon vodonika nađe na mestu gde se nalazi i jon kalcijuma, reaguje sa njim, nakon čega se formira bikarbonatni jon koji se tada oslobađa sa površine kristala i odlazi u rastvor. Oslobađanjem bikarbonatnog jona nastaje stanje neravnoteže, što za posledicu ima i oslobađanje jona kalcijuma koji se takođe otpušta u rastvor. U procesu hemijskog rastvaranja stene bitnu ulogu takođe igraju pH vrednost i temperatura (rastvaranje stena je intenzivnije pri nižim nego višim temperaturama, Milanović 1979).

Kao značajan faktor u procesu karstifikacije javlja se vodopropusnost, odnosno postojanje pukotina u karstu. Iz tog razloga, veliku ulogu u procesu karstifikacije mogu igrati tektonski pokreti koji utiču na formiranje brojnih pukotina i razloma u krtim stenama kao što su krečnjak i dolomit, što omogućava prodiranje vode u dublje slojeve. Pored tektonskih pukotina, značajne su i pukotine relaksacije (nakon prestanka delovanja određenog pritiska na stenu, dolazi do „relaksacije“ stene, pri čemu se mogu formirati pukotine), ali i površinske pukotine koje nastaju kao posledica egzogenih procesa (Milanović 1979).

Kao što je objašnjeno, proces karstifikacije započinje prodiranjem vode u pukotine i rastvaranjem stene. Vremenom se pukotine šire i formiraju se karstni kanali koji su u početku malih, a kasnije većih dimenzija. U jednom momentu, stvaraju se uslovi za turbulentno kretanje vode, što predstavlja najznačajniji proces u karstifikaciji jer tada voda, pored toga što hemijski rastvara stenu, na nju deluje i mehanički (proces erozije), jer sa sobom nosi materijal različitog porekla. Vremenom i sami kanali počinju da se obrušavaju, a samim tim i šire (Milanović 1979).

Dubina do koje su stene zahvaćene procesom karstifikacije može biti veoma varijabilna (obično sa dubinom stepen karstifikacije opada) i u Dinarskom karstu na primer dostiže dubinu od 250 m (Milanović 1979).

1.4.2.2. Podela i geomorfološke karakteristike karsta

Podela karsta na različite tipove se može izvršiti na osnovu velikog broja kriterijuma: uzimajući u obzir morfološke elemente, hidrogeološki aspekt, tektogenetski pristup, vreme nastanka, dubinu do koje karst doseže, genetske osobine, strukturne

elemente i mnoge druge karakteristike. U narednom tekstu biće prikazana podela karsta na osnovu morfoloških i hidrogeoloških karakteristika (Milanović 1979).

Prema morfološkim elementima, razlikuju se holokarst, merokarst i prelazni tip karsta. Velike ogoljene stenovite površine koje karakteriše odsustvo vegetacije i obradivog zemljišta su karakteristika područja holokarsta. Ovaj tip karsta razvijen je na području koje skoro u potpunosti grade rastvorljive karbonatne stene, zbog čega se karakteriše velikom raznovrsnošću kako površinskih, tako i podzemnih karstnih oblika i mogućnošću za njihov dalji razvoj i nastanak novih. Kod merokarsta (koji se još naziva i pokriveni karst) karbonatni sediment prekriven je vegetacijom i obradivim površinama. Za ovaj tip karsta se još kaže da je "nepotpuni" karst i u odnosu na holokarst, karbonatne stene u merokarstu su procesom karstifikacije zahvaćene u manjoj meri, zbog čega su karstni oblici retki. Prelazni tip karsta se odlikuje takvim stepenom karstifikacije da se po karakteristikama nalazi između holokarsta i merokarsta.

Jedna od podela sa hidrogeološkog aspekta je podela karsta na karst platformi i karst geosinklinala. Karst platformi odlikuje se horizontalnim ili blago nagnutim slojevima i zaravnjenim reljefom. Ova područja su zbog slabije tektonike siromašna razlovnim elementima koji su glavni usmerivači karstnog procesa. Karbonatne stene u ovom tipu karsta sadrže veći procenat laporovite materije, pa je karstifikacija otežana. Sa druge strane, geosinklinalni karst razvijen je u izrazito razlomljenim stenama u kojima dominira veoma rastvorljivi krečnjak, zbog čega je proces karstifikacije izražen.

Najuočljivija posledica procesa karstifikacije su specifične geomorfološke karakteristike karsta, odnosno karakteristična morfologija po kojoj se karstni regioni razlikuju od ostalih. Najznačajniji morfološki oblici karsta su škape, vrtače, suve doline, karstna polja, jame i pećine.

Škape predstavljaju manje, ali najčešće karstne oblike, koji se formiraju u krečnjacima kao posledica hemijskog dejstva vode. Pukotinske škape obično imaju oblik jako proširenih pukotina sa oštrim ivicama i strmim stranama., pri čemu često dostižu dubinu između 2 i 4 metra (retko dubina premašuje 5 metara), a širinu do jednog metra. One koje se formiraju kao plitka udubljenja na horizontalnim površinama koja su kružnog oblika, dubine su oko 30 cm (kamenice).

Vrtače predstavljaju površinske karstne oblike u vidu udubljenja od nekoliko, pa do više desetina metara, a koje su levkastog, tanjurastog ili bunarastog oblika. Dno im je

pokriveno crvenicom (nerastvorni ostatak nastao kao posledica rastvaranja krečnjaka), ili debelim slojem sedimenta ako su vrtače duboke, a ređa situacija je da pokrivača uopšte nema. Nastaju takođe kao posledica dejstva vode na krečnjake najčešće na mestu presecanja dva ili više razloma, ali mogu nastati i prolamanjem tavanica u kavernama i karstnim kanalima koji se nalaze neposredno ispod površine terena. Na ravnjem terenu broj vrtača je veći, ali su im dimenzije manje, dok je na brdovitom terenu obrnuto.

Suve doline karakteriše odsustvo i stalnih i privremenih rečnih tokova. Genetski su vezane za process evolucije karsta, mada na njihov postanak utiče i tektonika i litološki sastav.

Karstna polja predstavljaju izolovane, zaravnjene i obradive površine u karstnim regionima koje su prekrivene sedimentom. U njihovom postanku ulogu igra tektonika, ali uticaja imaju i egzogeni faktori i procesi. Njihove osnovne karakteristike su: a) zaravnjeni kvartarni pokrivač okružen karstifikovanim karbonatnim masama koje se izdižu iznad nivoa polja; b) izduženog su oblika, a osa se poklapa sa pravcem pružanja struktura i slojeva; c) vrela, estavele i ponori se nalaze po obodu polja; d) stalni ili povremeni tok se obično formira između najznačajnijeg ponora i vrela; e) najveći ponori i ponorske zone nalaze se u najnižem delu polja.

Jame i pećine će detaljnije biti opisane u poglavljju ispod.

Od značaja je pomenuti karstne hidro pojave: povremeni i stalni izvori (karstna vrela), povremeni i stalni vodeni tokovi (ređe stalni, češće povremeni koji se formiraju u periodu obilnih padavina), ponori (jedan od simbola karsta i obično se klasificuju u grupe u zavisnosti od kapaciteta primanja vode), estavele (pojave sa dvostrukom hidrološkom funkcijom: u jednom periodu rade kao povremena vrela, a zatim kao ponori) i vrulje (izvori koji se nalaze ispod nivoa mora).

1.4.2.2.1. Speleološki objekti (jame i pećine)

Speleološki objekti su najbolji pokazatelji raznovrsnosti geomorfoloških procesa u krečnjačkim terenima i njihove složenosti. Na njihovu raznovrsnost utiču rasprostranjenje, oblik karbonatne mase i odnos sa nekarbonatnim okruženjem, kao i strukturno-tektonske karakteristike krečnjaka. Njihova klasifikacija se zasniva na više

različitih kriterijuma, od kojih su najpoznatije podele zasnovane na speleomorfološkim i hidrogeološkim karakteristikama (Đurović 1998).

Osnovni pokazatelj morfološke raznovrsnosti nekog speleološkog objekta predstavljaju nagib kanala, smer horizontalnog pružanja, jednostavnost, povezanost i njihov međusoban odnos (Đurović 1998). U odnosu na nagib kanala, speleološki objekti se mogu podeliti na jame i pećine (Garašić 1991).

Jame predstavljaju vertikalne ili subvertikalne karstne kanale (pod nagibom između 45-90 stepeni) koji se nalaze u zonama vertikalnih pukotina i koji imaju otvor na površini terena. Pod snažnim su uticajem kako hemijskog, tako i mehaničkog dejstva vode, pa njihovi kanali i otvori mogu biti veoma široki (Milanović 1979).

Pećine predstavljaju prirodne otvore u steni koji se često nastavljaju u sistem podzemnih kanala i dvorana i čija dubina varira od nekoliko metara do nekoliko kilometara. To su oni speleološki objekti kod kojih se glavni kanal pruža horizontalno ili ima mali nagib i koji preko jednog ili više otvora komuniciraju sa površinom terena (Milanović 1979). Veličina je varijabilna, pa se tako mogu sresti one koje su veoma male, ali i one veoma velike, sa složenim spletom dvorana, kanala i prolaza.

S obzirom da je nekada teško odrediti da li je neki speleološki objekat jama ili pećina, uvedena je i treća kategorija koja podrazumeva kombinaciju ove dve prethodne (Garašić 1991).

Brojnost kanala i njihov međusobni odnos pokazatelj je složenosti speleološkog objekta, pa se tako mogu razlikovati tri kategorije. Jednostavni speleološki objekti su oni objekti koji imaju samo jedan kanal koji se pruža horizontalno ili vertikalno i tu se ubrajaju jednostavne pećine ili jame. Sledeća kategorija obuhvata nešto složenije speleološke objekte, koji pored glavnog kanala podrazumevaju i postojanje bočnih, ali se svi pružaju u istom nivou, pri čemu se ne prepliću. Kod treće kategorije koja se odnosi na najsloženije speleološke objekte, pored glavnog kanala postoji i veliki broj bočnih, pri čemu se svi mogu pružati u različitim pravcima i pritom preplitati (Đurović 1998).

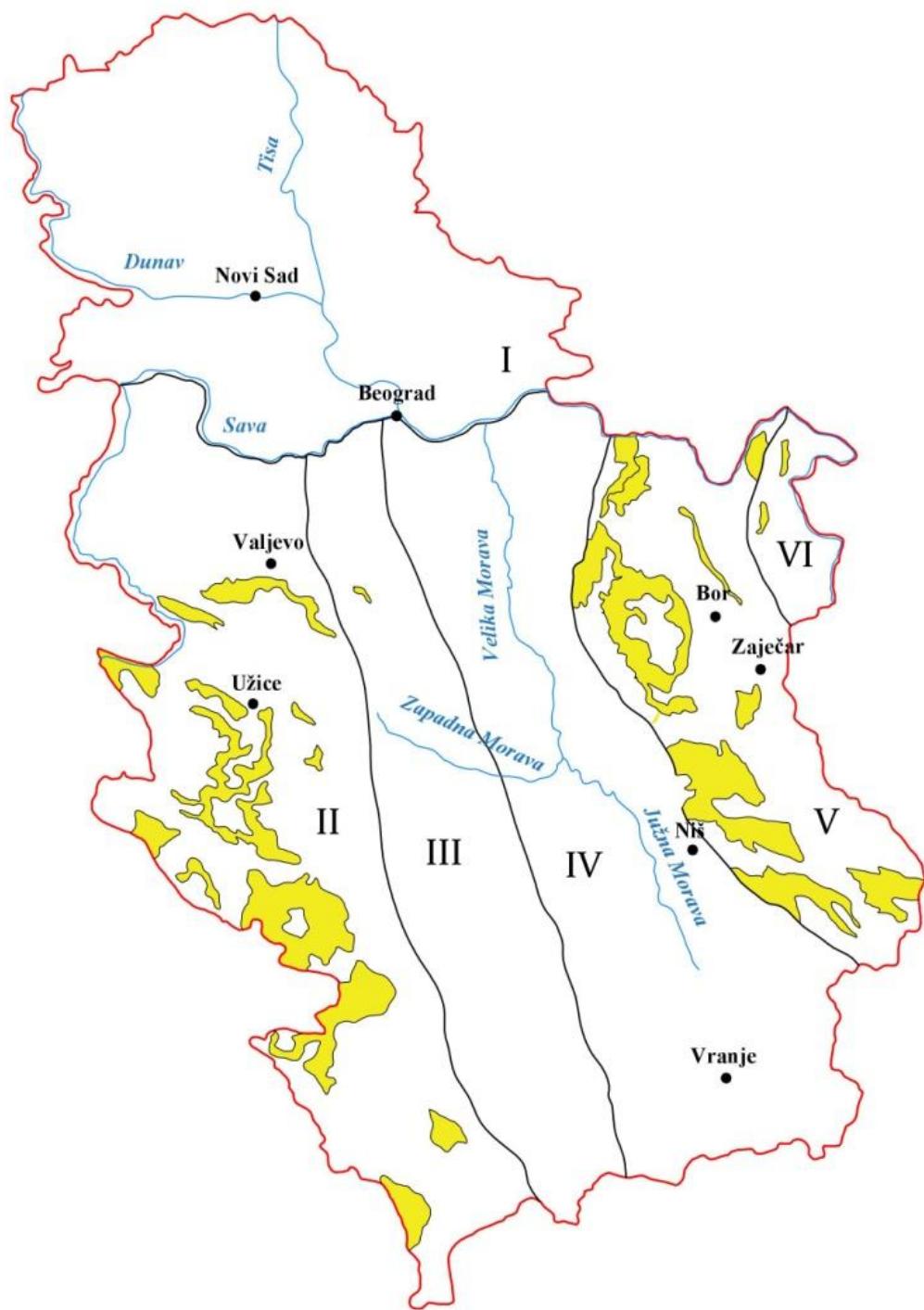
Prema hidrogeološkoj funkciji, speleološki objekti se dele na ponore, jame i pećine sa stalnom i povremenom hidrološkom funkcijom, speleološke izvorske objekte (vrela) i speleološke objekte sa složenom hidrogeološkom funkcijom (ponor – izvor). Ponori se formiraju zahvaljujući pukotinskim sistemima, prisustvu većih razloma,

hemijsko mehaničkom dejstvu vode i međuslojnim pukotinama. Dele se na vertikalne (jamske) ponorske objekte i horizontalne (pećinske) ponorske objekte, a takođe i na ponore sa stalnom hidrogeološkom funkcijom, povremenom hidrogeološkom funkcijom i ponore van hidrogeološke funkcije. U jame i pećine sa stalnom i povremenom hidrološkom funkcijom spadaju objekti u koje voda isključivo dolazi podzemnim putem sistemima malih kanala i pukotinskim sistemima, a zatim nestaje na kraju objekta. Dele se na speleološke objekte sa stalnim podzemnim tokom, speleološke objekte sa povremenim podzemnim tokom i speleološke objekte sa ujezerenom vodom (sifonski objekti). Speleološkim izvorskim objektima (karstni izvori - vrela) poklanja se najveća pažnja. Njihova glavna karakteristika je da njihova izdašnost zavisi od padavina. Po načinu isticanja, dele se u dve grupe – gravitaciona (silazna) i sifonska (uzlazna) karstna vrela. Speleološki objekti sa složenom hidrogeološkom funkcijom (ponor – izvor) imaju dvojaku funkciju: i ponorskog i izvorskog hidrogeološkog objekta. Njihova glavna karakteristika odnosi se na to da se mogu pratiti od mesta poniranja vode, do mesta njenog isticanja. Dele se na aktivne i povremeno aktivne speleološke objekte sa složenom hidrogeološkom funkcijom (Milanović 2012).

1.4.2.3. Rasprostranjenje karsta u Srbiji

Karst se generalno karakteriše neravnomernom raspoređenošću u svetu: sa jedne strane, na velikim područjima kao što su južna Amerika i Skandinavija karsta gotovo da nema, dok je Mediteran izuzetno bogat karsnim regionima. U Evropi se karstni regioni nalaze na području Dinarida (koji se proteže od severozapadne Italije, preko Slovenije, Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Srbije, Crne Gore do jugoistočne Albanije), Helenida (Grčka), Apenina (Italija), Pirineja (Španija), u području Alpa, na Krimu i Kavkazu i u zoni Karpato-balkanida (Milanović 1979).

U Srbiji (Slika 3) su dve najveće karstne oblasti jugoistočnog i istočnog dela zemlje koji je deo jedinstvenog planinskog venca Karpato-balkanida i Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije (Milanović 2012).



Slika 3. Karst Srbije. Žuti delovi na mapi označavaju karst. I – Panonski basen; II – Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije; III – Šumadijsko–kopaoničko–kosovska zona; IV – Srpsko kristalasto jezgro; V – Karpato–balkanidi; VI – Dakijski basen.

Područje Karpato-balkanida tokom geološke istorije pretrpelo je brojne promene što je rezultovalo nastankom složene geološke građe koja je uslovila raznovrsne geomorfološke oblike i procese. Ono što ističe i izdvaja geomorfološke karakteristike ovog regiona je naglašena raščlanjenost reljefa i izražena karstna morfologija. Sa jedne strane zapažaju se planinski masivi, a sa druge, unutar regiona ili po obodu, međuplaninske depresije. Delovi terena izgrađeni od karbonatnih naslaga imaju debljinu koja varira i kreće se u širokim granicama od nekoliko desetina metara do 1000 metara. Veoma su izraženi kako površinski, tako i podzemni karstni oblici, među kojima se izdvajaju pećine (Filipović i sar. 2005).

Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije imaju značajno rasprostranjenje. Dominira brdsko-planinski reljef, s tim što su u središnjem i južnom delu prisutni planinski masivi, a nasuprot planinskim masivima kotline, odnosno potoline, u okviru kojih se u određenim delovima nalaze najniže kote terena. Karakterišu se izrazito složenom tektonskom građom i velikom poremećenošću zastupljenih geoloških struktura nastalih kao posledica tektonskih pokreta i pratećih magmatskih i vulkanskih procesa (Filipović i sar. 2005). Krečnjaci, pogotovo oni srednjeg i gornjeg trijasa odlikuju se izrazito karbonatnim sastavom. U severnom delu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije, Lelički karst ima kontinualno pružanje i obuhvata površinu od 300 km^2 otkrivenog karsta (Milanović 2012).

Speleološki objekti su rasprostranjeni u karstnim predelima širom sveta i njihove dimenzije se kreću od jedva vidljivih pukotina, do kanala dužine više desetina ili stotina kilometara i dvorana površine i po više kvadratnih kilometara. U karstu Srbije obično preovlađuju pukotine i manje šupljine (kanali malih dimenzija i manje kaverne), ali nije retka i pojava većih speleoloških objekata dužine kanala od nekoliko desetina, stotina ili hiljada metara. Karst Srbije karakteriše postojanje velikog broja kratkih i jednostavnih pećina i odsustvo velikih pećinskih sistema. Kod većine velikih pećina zapaža se odsustvo bočnih i sporednih kanala, što ukazuje na siromaštvo podzemnih tokova. Čak i neke od najdužih pećina (na primer Bogovinska pećina) su predstavljene jednostavnim kanalima u kojima se nalaze manje ili veće dvorane. Lazareva pećina, na primer, predstavlja pravi pećinski sistem koji se sastoji od spletova hodnika, kanala i dvorana raspoređenih u više horizonata (Milanović 2012).

Karst istočne Srbije generalno se karakteriše prisustvom jama ili pećina sa stalnom ili povremenom hidrogeološkom funkcijom. U višim karstnim terenima speleološki objekti se uglavnom javljaju kao aktivni ponori i ponorske zone čija je glavna uloga sprovođenje velikih voda u podzemlje. Na krečnjačkim masivima koje predstavljaju oblasti bez ili sa veoma slabim površinskim oticanjem, javlja se najveći broj plitkih jama (Milanović 2012).

U površinskom karstnom reljefu zapadne Srbije dominiraju skaršcene doline sa velikim brojem manjih uvala i vrtača (Milanović 2012). Pećine se ovde javljaju i u ponorskim i u izvorskim zonama, odnosno na gornjem i donjem obodu krečnjačkih pojaseva (Petrović 1976). Ponorski objekti su uglavnom sastavljeni od više kanala u različitim nivoima. Oticanje podzemnih rečnih tokova prati pravce razvoja speleoloških objekata (Milanović 2012). U zapadnoj Srbiji izostaju karbonatne tvorevine pogodne za razvoj većih speleoloških objekata (Đurović 1998).

1.5. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenovitim površinama

1.5.1. Aerofitske cijanobakterije i alge na prirodnim stenovitim površinama i građevinskim konstrukcijama

Fototrofni mikroorganizmi (cijanobakterije i alge) mogu naseliti različite stenovite supstrate, kako one koji se javljaju u prirodi, tako i one koji su sastavni deo različitih građevinskih konstrukcija (krečnjak, peščar, granit, mermer, dolomit, malter itd.) (Albertano 2012). Studije koje se fokusiraju na zajednice fototrofnih organizama koje naseljavaju stene u prirodi pokrivaju umerene, polarne regije, kao i tropi i suptrope, pri čemu se ispituju one zajednice koje naseljavaju izložene stene, ali i one koje kolonizuju različita hipogejska staništa među kojima su i pećine (Albertano 2012). Takođe, veliki broj studija se fokusira i na zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi koje naseljavaju različite građevinske konstrukcije, bilo da su novijeg datuma ili ne, pri čemu je posebna pažnja usmerena na objekte kulturne baštine (Albertano 2012; Macedo i sar. 2009). Kada se uzima u obzir diverzitet fototrofnih mikroorganizama, znatno manji broj taksona beleži se na gradevinama nego na prirodnim stenovitim površinama. Jedan od razloga za to može biti upotreba različitih vrsta hemikalija u oblikovanju

različitih materijala koji se korsite u izgradnji objekata, a koje imaju za cilj da poboljšaju i unaprede osobine građevinskog materijala. Upotreba tih hemikalija za posledicu često ima ograničen razvoj biofilma. Takođe, mnoge studije koje se bave fototrofnim mikroorganizmima koji se razvijaju na različitim građevinama pre svega imaju za cilj proučavanje procesa deterioracije, dok je diverzitet mikroorganizama u drugom planu. Najveći broj studija koje opisuju fototrofne mikroorganizme sa stena potiče iz Evrope, pri čemu su to većinom zajednice mikroorganizama koje se razvijaju na krečnjaku. Na krečnjačkim površinama razvijaju se različite grupe fototrofnih mikroorganizama, ali su često cijanobakterije dominantne. Što se peščaru tiče, epilitna flora na ovom supstratu je generalno dosta siromašna i slabo istražena. Studije evropskih naučnika uglavnom ističu da su na peščaru zastupljenije zelene i silikatne alge u odnosu na cijanobakterije. Razlog za nizak diverzitet cijanobakterija na peščaru može biti relativno nizak pH supstrata (Hauer i sar. 2015; Macedo i sar. 2009).

1.5.2. Životne forme aerofitskih cijanobakterija i algi na stenovitim površinama

Kao što je već napomenuto, stene u svakom smislu predstavljaju veoma specifično mesto za život fototrofnih mikroorganizama i mogu se kategorisati kao ekstremno stanište ukoliko se uzmu u obzir glavni ograničavajući faktori za rast i razvoj fototrofa: nedostatak vode i nutrijenata, ali i kolebanja temperature i intenziteta svetlosti (Hauer i sar. 2015). Specifična zajednica mikroorganizama koja se na ovim supstratima razvija rezultat je kombinacije karakteristika supstrata, različitih faktora sredine, ali i međusobnih interakcija mikroorganizama. Nekada variranja u vrednostima ekoloških faktora mogu voditi do formiranja različitih mikrostaništa u različito vreme (Hauer i sar. 2015; Albertano 2012; Casamatta i sar. 2002). Fototrofni mikroorganizmi koji naseljavaju stene dele se pre svega na epilitske i endolitske cijanobakterije i alge, pri čemu se endolitske dele u više grupa (prema Golubić 1981): hazmoendolitske, kriptoendolitske i euendolitske. Epilitske cijanobakterije i alge naseljavaju površinu stene; hazmoendoliti naseljavaju pukotine ili udubljenja na površini stena koje su povezane sa spoljašnjom sredinom; kriptoendolitske cijanobakterije i alge rastu unutar poroznih stena u kojima se već nalazi formirana mreža otvorenih kanala ili prostora, dok

euendoliti aktivno, fizičkim i hemijskim putem, razlažu stenu i duboko prodiru u unutrašnjost supstrata (Albertano 2012; Keshari i Adhikary 2014).

Istraživači se pre svega uglavnom fokusiraju na epilitsku zajednicu mikroorganizama koja se razvija na stenama, jer je takva zajednica mikroorganizama pre svega lako uočljiva i lako ju je uzorkovati. Najčešće u epilitskom biofilmu dominiraju cijanobakterije koje imaju veliki broj važnih uloga (primarni kolonizatori, fiksatori atmosferskog azota, uzročnici deterioracije) (Hauer i sar 2015). Sa druge strane, endolitski rast fototrofnih mikroorganizama se u stenama često može prevideti i neki autori smatraju da postoji šansa da su endolitske alge čak i rasprostranjenije nego epilitske. U prilog tome ide i činjenica da većina endolitskih cijanobakterija može da se razvije i epilitski na steni ukoliko su im uslovi povoljni (Asencio i Aboal 2000a). Dubine do kojih endoliti u stenama dosežu veoma variraju i pre svega zavise od tipa stene, odnosno od toga do koje dubine svetlost prodire u stenu. Obično se razvijaju do 3 mm dubine. Međutim, u bazalnim stenama dubina do koje endoliti dosežu je dosta manja, dok se u stenama koje su formirane od velikih kristala kao što je kvarc, mogu naći i na mnogo većim dubinama (Pentecost i Whitton 2012). Kolonizacija endolitskih staništa može biti strategija za preživljavanje ekstremnih uslova sredine, odnosno različitih stresova kao što su letalno UV zračenje, veoma visoka ili niska temperatura, izrazit nedostatak vode. Pri ovoj kombinaciji faktora spoljašnje sredine, površina stena izgleda potpuno sterilno; međutim, dovoljan je samo 1 mm stene da mikroorganizme zaštiti i omogući im okruženje u kome će oni moći da rastu i da se razvijaju. Iz tog razloga fototrofni mikroorganizmi često kolonizuju unutrašnjost stena, kako u polarnim predelima, tako i u pustinjama (na primer Atakama pustinja, jedno od najsušnijih mesta na planeti, Wierzchos i sar. 2015).

1.5.3. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenama i proces deterioracije

Deterioraciju određenog supstrata uzrokuju kako abotički (fizički i hemijski procesi), tako i biotički faktori, ali jasna granica između njih ne postoji. Biotički faktori se odnose na dejstvo mikroorganizama koji vremenom počinju negativno da utiču na supstrat na kome se razvijaju, narušavajući njegovu strukturu, ali i izgled. Deterioracija je prvobitno definisana od strane Hueck-a (1965) kao „bilo koja neželjena promena u

osobinama određenog supstrata ili materijala koja je uzrokovana aktivnošću organizama“. Te promene variraju od velikih i ireverzibilnih, koje se karakterišu velikim oštećenjem supstrata, do manjih koje na prvi pogled uopšte nisu uočljive.

Deterioracija stenovitih supstrata od strane fototrofnih mikroorganizama uglavnom zavisi od njihovih međusobnih interakcija, a transformacija supstrata u direktnoj je vezi sa stepenom adhezije organizama za podlogu. Nakon uspešne adhezije formira se biofilm čija je struktura obično takva da su mikroorganizmi raspoređeni u grupicama između kojih su praznine koje omogućavaju cirkulaciju različitih tečnosti, supstanci i nutrijenata (Pinna i Salvadori 2008). Organizmi interaguju sa supstratom preko različitih molekula i struktura koje poseduju, i fizički i hemijski.

Procesi fizičke prirode podrazumevaju sve one procese u kojima mikroorganizmi svojim kretanjem ili rastom mehanički deluju na supstrat tako što “razmiču” zrna, odnosno slabe veze između delova supstrata. Ti delovi supstrata i dalje imaju isti hemijski sastav, ali su podložniji raspadanju, odnosno dejstvu različitih faktora sredine – voda, kiša, zamrzavanje itd. Omotači cijanobakterija ovde mogu igrati veliku ulogu, usled česte dehidratacije i rehidratacije (Pinna i Salvadori 2008).

Hemijsko razaranje supstrata je posledica različitih metaboličkih procesa organizama, odnosno produkcije prelaznih ili sekundarnih produkata metabolizma ili određenih enzima koji se mogu ciljano izlučivati u cilju korišćenja nutrijenata iz supstrata. Hemijsko razaranje supstrata odvija se na različite načine i uključuje: acidolizu (oslobađanje H^+ jona od strane mikroorganizama), kompleksolizu (formiranje kompleksa različitih jedinjenja), dejstvo alkalnih jedinjenja koja neki organizmi mogu proizvoditi, selektivna mobilizacija i akumulacija elemenata (na primer joni kalcijuma), razmena katjona sa supstratom (uronske kiseline EPS-a), degradacija supstrata pomoću enzima i produkcija pigmenata. Fizička i hemijska deterioracija supstrata su obično simultani procesi, a koji će u određenom trenutku biti dominantan, zavisi od vrste supstrata, zajednice organizama koja se na njemu razvija i sredinskih uslova (Pinna i Salvadori 2008).

Epilitski fototrofni mikroorganizmi svojim rastom i razvojem utiču na formiranje raznih udubljenja i drugih nepravilnosti na stenama, pri čemu se obezbeđuje veći raspon mikrostaništa koja mogu kolonizovati novi organizmi. Neki smatraju da su, ako posmatramo fototrofne mikroorganizme, glavni uzročnici deterioracije ipak

endolitski predstavnici jer formiraju pogodno stanište za kolonizaciju još opasnijih biodeteriogena kao što su gljive, mahovine i više biljke (Keshari i Adhikary 2014). Međutim, mikroorganizmi koji se razvijaju na određenom supstratu ne moraju biti direktni uzročnici deterioracije. Biofilm se obično sporo razvija i oštećenja koja nanosi supstratu mogu biti vidljiva tek nakon nekoliko, pa i više desetina, godina. Neki autori čak tvrde da biofilm ima više pozitivnih efekata na podlogu na kojoj se razvija, odnosno da u stvari štiti stenu od vетра, vode, padavina i negativnih uticaja spoljašnje sredine (Pinna i Salvadori 2008).

1.5.4. Aerofitske cijanobakterije i alge na stenama i proces kalcifikacije

Kao što je već napomenuto, biofilm igra važnu ulogu u procesima mobilizacije kalcijuma iz podloge od strane različitih mikroorganizama. Anjonska priroda EPS-a odgovorna je za vezivanje katjona, tako da može formirati mesta nukleacije za mineralizaciju. Joni kalcijuma se mobilišu iz supstrata i talože na polisaharidne omotače u formi kalcijum karbonata, prateći pri tom oblik ćelija (Pinna i Salvadori 2008). U većini slučajeva kalcifikacija je pod biološkom kontrolom, ali mehanizmi ovog procesa nisu u potpunosti razjašnjeni (Stal 2012). U hipogejskim staništima, naročito pećinama, kalcifikacija i taloženje CaCO_3 je proces koji se često zapaža na filamentima cijanobakterija. Iako ovaj proces mobilizacije kalcijuma iz podloge i njegovog taloženja na omotače igra veliku ulogu u deterioraciji stene, postoje indicije da ovaj process može biti jedan od načina za konzervaciju kulturnog nasleđa (Le Metayer-Levrel i sar. 1999; De Muynck i sar. 2010).

1.6. Aerofitske cijanobakterije i alge u pećinskim staništima

Pećine predstavljaju hipogejska staništa koja obuhvataju širok spektar veoma raznovrsnih karstnih formacija (Lamprinou i sar. 2009). Širom sveta veoma su zastupljene pećine nastale u krečnjaku, odnosno krečnjačke pećine (Hernández -Mariné i sar. 2001; Lamprinou i sar. 2012a; Roldán i sar. 2004). Na osnovu geoloških ili arheoloških karakteristika, mnoge od njih su zaštićene (Urzi i sar. 2010) i uvršćene u

listu UNESCO-a, pri čemu se njihov broj iz godine u godinu povećava (Czerwikk-Marcinkowska 2013).

Smatra se da su pećine uglavnom zatvorena staništa u smislu kruženja materije i protoka energije. Protok energije je zapravo minimalan i sastoji se uglavnom u razmeni topote između atmosfere i stenovitog supstrata (Grobbelaar 2000). Situacija se menja onog trenutka kada se pećine prilagođavaju za turističke posete. Prilagođavanjem pećine dejstvo faktora spoljašnje sredine na do tada netaknuti pećinski ekosistem postaje izraženije, što dovodi do promena u mikroklimatskim karakteristikama (Urzì i sar. 2010). Razmena materije i energije postaje izraženija, odnosno priliv nutrijenata je pojačan (Mulec i sar. 2008).

Abiotički i biotički faktori u hipogejskim staništima su u delikatnom ekvilibrijumu (Pantazidou i Roussomoustakaki 2005). U smislu abiotičkih faktora, unutrašnjost pećine predstavlja specifično stanište (Lamprinou i sar. 2012a) koje se karakteriše odsustvom sezona (Cennamo i sar. 2012), kao i stabilnom temperaturom i relativnom vlažnošću vazduha tokom cele godine (Czerwikk-Marcinkowska 2013; Hernández-Mariné i Canals 1994; Lamprinou i sar. 2009, 2012a; Martinez i Asencio 2010; Pouličková i Hašler 2007). Prosečna godišnja temperatura, čije su fluktuacije veoma male (Czerwikk-Marcinkowska i Mrozińska 2011), dovodi se u vezu sa temperaturom stena i obrnuto je srazmerna sa relativnom vlažnošću vazduha. Za razliku od pomenutih parametara, intenzitet svetlosti varira i menja se kako se ide od ulaza ka unutrašnjosti (Martinez i Asencio 2010). Prema Tobin i saradnicima (2013) u odnosu na intenzitet svetlosti pećina se može podeliti na tri zone: zona ulaza, prelazna zona i duboka pećinska zona (zona potpunog mraka), dok je prema Lamprinou i saradnicima (2012a) treća zona ustvari zona prigušenog svetla. U smislu količine nutrijenata, pećine predstavljaju oligotrofnu sredinu (Czerwikk-Marcinkowska 2013; Cennamo i sar. 2012; Mulec i sar. 2008; Urzì i sar. 2010) koja se oslanja na organsku materiju koja dospeva iz spoljašnje sredine vodom, vazdušnim strujama i životinjama (Mazina i Maximov 2011).

Krečnjačke pećine predstavljaju specifična staništa za različite vrste organizama (Hernández-Mariné i sar. 2001; Lamprinou i sar. 2012a; Roldán i sar. 2004). Za organizme koji naseljavaju pećine se sa jedne strane smatra da naseljavaju ekstremna staništa (pre svega u smislu nedostatka nutrijenata) (Czerwikk-Marcinkowska 2013), a sa druge strane da su našli utočište, odnosno sklonište, u kojem mogu nesmetano da se

razvijaju, s obzirom da su uslovi u pećinama relativno stabilni i bez većih kolebanja (Lamprinou i sar. 2009). U mnogim evropskim pećinama može se zapaziti da su zidovi, plafoni, kao i sediment pećina kolonizovani različitim mikroorganizmima/organizmima koji najčešće zajedno formiraju biofilmove (Pouličková i Hašler 2007). Bitna komponenta biofilmova jesu fototrofni mikroorganizmi koji često igraju ključnu ulogu u kolonizaciji različitih supstrata u pećinama. Pre svega, fototrofni mikroorganizmi se razvijaju na samim ulazima pećina, ali i u unutrašnjosti nedaleko od veštačkog osvetljenja, što predstavlja zajednicu koja se naziva lampenflora (Albertano i Urzì 1999; Czerwic-Marcinkowska 2013; Mulec 2005, 2008). Takođe se povremeno mogu javiti i u mračnim delovima pećine, ali je njihovo prisustvo tu privremeno (Gunn 2004). U prirodnom nenarušenom pećinskom staništu postoji balans između različitih grupa mikroorganizama (Saiz-Jimenez 2012). Nakon prilagođavanja i instalacije osvetljenja, menja se mikroklima (Czerwic-Marcinkowska 2013), akumulira se organska materija, pri čemu se razvijaju fototrofi i narušava se balans koji je tu postojao (Mazina i Maximov 2011). Takođe, mnogi novi mikroorganizmi mogu dospeti iz spoljašnje sredine, koji zbog novonastalih uslova, mogu biti kompetitivniji u odnosu na one koji kao nativni postoje u pećinama (Mulec i sar 2008). Smatra se da je svetlost glavni faktor koji utiče na rast i razvoj fototrofnih mikroorganizama u ovim hipogejskim staništima i dubina do koje se prostiru biofilmovi direktno zavisi od ovog parametra (Urzì i sar. 2010). Pošto je temperatura stabilna, kao i relativna vlažnost koja je obično visoka, od svetlosti zavisi da li će zajednice koje se razvijaju biti autotrofi ili heterotrofi (Albertano 2012). Prisustvo vodenih tokova kao i povremenih i prokapnih voda takođe imaju uticaja na razvoj fototrofnih mikroorganizama (Mulec i sar. 2008). Na suvljim mestima se obično razvijaju oni taksoni koji su među najtolerantnijima u odnosu na isušivanje (Potts 1994; Pouličková i Hašler 2007). Bitni parametri koji utiču na rast i razvoj cijanobakterija i algi su i fizičko-hemiske karakteristike supstrata (pH, hemija, poroznost) (Lamprinou i sar. 2012a; Pantazidou i Roussomoustakaki 2005; Pentecost i Whitton 2012). Pored pomenutih faktora, treba uzeti u obzir i mnoge druge parametre, među kojima su lokacija pećine, dimenzije i morfologija ulaza, orijentacija i mikroklimatski parametri (Czerwic-Marcinkowska 2013; Martinez i Asencio 2010). Razvoj fototrofa u pećinama često rezultuje u degradaciji supstrata (Mazina i Maximov 2011; Pentecost i Whitton 2012), gde cijanobakterije i alge često modifikuju krečnjačke

površine usled sinteze različitih produkata metabolizma (Smith i Olson 2007) i ugljene kiseline tokom respiracije (Marathe i Chaudhari 1975).

U primarne producente u pećinama se ubrajaju cijanobakterije i alge (Piano i sar. 2015) koje u zadnje vreme privlače sve više pažnje (Cennamo i sar. 2012). Još 1967. godine, S. Golubić je izučavao aerofitske cijanobakterije i alge Dinarskog karsta (Hauer i sar. 2015). Cijanobakterije, prvi kolonizatori mnogih supstrata, obično su dominantni fototrofi u pećinama i sreću se kao epiliti i endoliti (Lamprinou i sar. 2009; Smith i Olson 2007). Taksoni koji se u pećinama nalaze dele se na tri grupe: troglobitske vrste - obligatorni kavernikoli koji ne mogu preživeti van pećine, troglofilne vrste – žive i reprodukuju se u pećinama i trogloksenične vrste – slučajno dospevaju u pećinska staništa (Lamprinou i sar. 2012a). Ako uzmemu u obzir cijanobakterije, *Loriella osteophila* i *Scytonema julianum* se na primer mogu smatrati troglofilnim vrstama, dok se *Geitleria calcarea*, *Herpyzonema pulverulentum* i *Sympyonema cavernicolum* mogu smatrati obligatornim kavernikolnim taksonima (Hoffmann 2002; Lamprinou i sar. 2012a).

U principu smatra se da su, s obzirom na to da su pećine oligotrofna staništa, diverzitet vrsta i njihova biomasa veoma mali (Albertano i Urzì 1999; Lamprinou i sar. 2009; Pouličková i Hašler 2007) i da pećine uglavnom naseljavaju kosmopolitske vrste (Mulec i sar. 2008). Međutim, iz hipogejskih staništa opisan je značajan broj novih taksona za nauku, pa se može pretpostaviti da ovi specifični ekosistemi favorizuju specijaciju (Lamprinou i sar. 2009). Neki od taksona cijanobakterija koji su opisani iz pećinskih staništa su: *Asterocapsa gloeotheceformis*, *Asterocapsa hyalina*, *Asterocapsa trochisciooides* (Chu 1952), *Chlorogloea novacekii* (Komárek i Montejano 1994), *Chroococcidiopsis kashaii* (Friedmann 1961), *Geitleria calcarea* (Friedmann 1955), *Geitleria floridana* (Friedmann 1979), *Herpyzonema pulverulentum* (Hernández-Mariné i Canals 1994), *Iphinoe spelaeobios*, *Loriellopsis cavernicola* (Lamprinou i sar. 2011, 2013a), *Nephrococcus serbiclus* (Popović i sar. 2016a), *Oculatella subterranea* (Zammit i sar. 2012), *Phormidium melanochroun* (Lamprinou i sar. 2013b), *Spelaeopogon sommierii* (Borzi 1917), *Sympyonema cavernicolum* (Asencio i sar. 1996), *Toxopsis calypsus* (Lamprinou i sar. 2012b).

Hipogejska staništa i mikroorganizmi u njima proučavaju se sa različitim aspekata širom sveta i neke od publikacija predstavljene su ispod:

Tabela 1. Primeri publikacija o fototrofnim mikroorganizmima iz hipogejskih staništa.

Država u kojoj se nalazi hipogejsko stanište	Publikacija
Belgija	Garbacki i sar. 1999
Brazil	Sant'Anna i sar. 1991
Češka	Faimon i sar. 2002; Pouličkova i Hašler 2007
Engleska	Mason-Williams 1966; Pentecost 1993, 2011; Pentecost i Zhaochio 2001; Pentecost i Zhang 2004
Francuska	Bastian i Alabouvette 2009; Borderie i sar. 2011, 2014; Bourelly i Dupuy 1973; Leclerc i sar. 1983; Lefèvre i sar. 1964
Grčka	Anagnostidis i sar. 1982; Lamprinou i sar. 2009, 2011; 2012a, b; 2013a, b; 2014
Italija	Abdelahad 1989; Abdelahad i Bazzichelli 1988; Borzi 1917; Cennamo i sar. 2012; Giordano i sar. 2000; Skuja 1970
Izrael	Dor i Dor 1999; Friedmann 1964; Vinogradova i sar. 1998, 2009
Japan	Kashima i sar. 1987
Kina	Tian i He 1996
Malezija	Lundberg i McFarlane 2011
Mađarska	Claus 1962, 1964; Hajdu 1966; Kol 1966; Palik 1964; Rajczy 1986; Verseghy 1964
Makedonija	Tofilovska 2014; Tofilovska i sar. 2014
Nemačka	Dobat 1977
Poljska	Mrozińska-Broda i Czerwik-Marcinkowska 2004; Czerwik-Marcinkowska i Mrozińska 2009, 2010, 2011; Czerwik-Marcinkowska 2013; Czerwik-Marcinkowska i sar. 2015
Rumunija	Şerbănescu i Decu 1962
Rusija	Mazina i Maximov 2011
SAD	Davis i Rands 1982; Dayner i Johansen 1991; Jones 1964; Nagy 1964; Smith i Olson 2007; St. Clair i Rushforth 1976; St. Clair i sar. 1981; Van Landingham 1964
Slovenija	Klemenčič i Vrhovšek 2005; Mulec 2005, 2008, 2012; Mulec i Kosi 2008, 2009; Mulec i sar. 2007, 2008, 2012
Španija	Aboal i sar. 1994, 2003; Ascencio i Aboal 1996, 2000a,b, 2001, 2004, 2011; Asencio i sar. 1996; Beltrán i Asencio 2009; Cañaveras i sar. 2001; Cox i sar. 1981; Cuevza i sar. 2009; Gracia-Alonso 1974; Hernández- Mariné i Canals 1994; Hernández-Mariné i sar. 1999, 2001; Martínez i Asencio 2010; Pulido-Bosch i sar. 1997; Roldán i

	Hernández-Mariné 2009; Roldán i sar. 2004; Urzì i sar. 2010; Zimmerman i sar. 2005
Srbija	Popović i sar. 2015a, b; 2016a, b, c; 2017a, b
Švedska	Sallstedt i sar. 2014
Turska	Selvi i Altuner 2007

2. CILJEVI RADA

Predmet ove doktorske disertacije je analiza zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi sa stenovitog supstrata odabranih pećina sa teritorije Srbije. Analiza pre svega obuhvata ispitivanje epilitskih cijanobakterija i algi koje ulaze u sastav biofilma koji se razvija pre svega na stenovitoj podlozi pećinskih ulaza i/ili unutrašnjosti pećine, ali u odabranim pećinama uključuje i zajednicu endolitskih cijanobakterija i algi koje se razvijaju u stenovitom supstratu. Posebna pažnja je posvećena morfologiji, izgledu biofilma i njegovim komponentama, analizi stenovitog supstrata, kao i statističkim analizama koje su imale za cilj da ukažu na povezanost zajednice aerofitskih fototrofnih mikroorganizama i različitih ekoloških parametara.

Na odabranim uzorcima, ispitivana je problematika sezonske dinamike aerofitskih cijanobakterija i algi, kvantitativne analize i načini procene biomase cijanobakterija i algi.

Naučni ciljevi disertacije su:

- Utvrđivanje izgleda biofilma i položaja i udaljenosti svake tačke uzorkovanja od ulaza ili veštačkog osvetljenja.
- Utvrđivanje ekoloških parametara (temperature, relativne vlažnosti vazduha i intenziteta svetlosti) na svakoj tački uzorkovanja.
- Određivanje koncentracije hlorofila *a*, kao indirektnog kvantitativnog pokazatelja primarne produkcije fototrofnih mikroorganizama u biofilmu.
- Određivanje sadržaja vode, organske i neorganske materije po jedinici mase i po jedinici površine u svakom uzorku biofilma.
- Utvrđivanje strukture zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi, odnosno ukupnog diverziteta aerofitskih cijanobakterija i algi, na osnovu svih uzoraka biofilma i endolitskih uzoraka uzetih iz istraživanih pećina i pojedinačno na nivou svake pećine

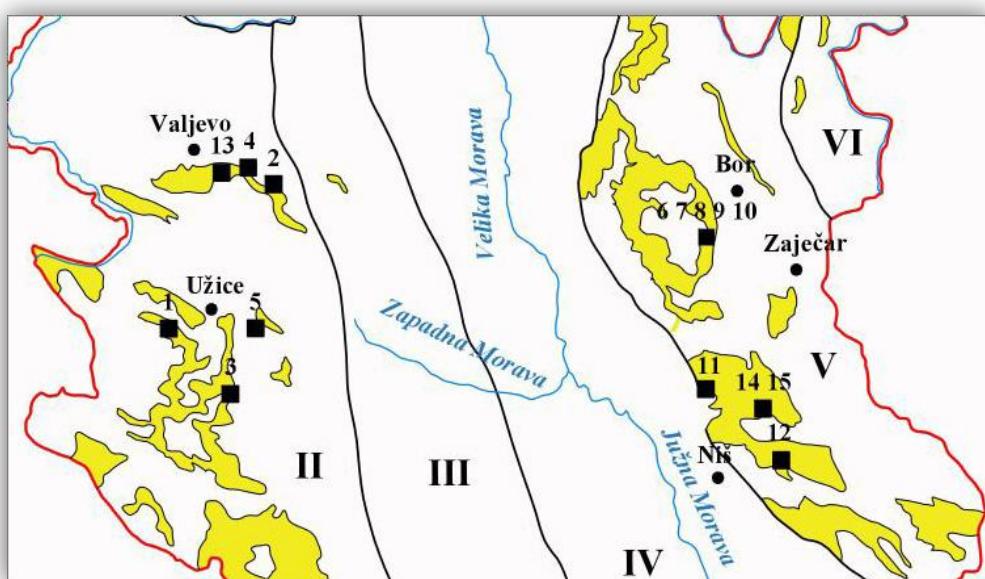
(sa posebnim osvrtom na diverzitet cijanobakterija, odnosno kokoidnih, homocitnih i heterocitnih formi, dominaciju određenih taksona ili njihovu pojavu u samo jednoj pećini).

- Utvrđivanje sezonske dinamike aerofitskih cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma na primeru pećina Samar i Jezava.
- Kvantitativna analiza odabranih uzoraka biofilma iz pećina Vernjikica i Degurić, određivanje brojnosti cijanobakterija i algi, kao i određivanje biomase i utvrđivanje dominantnih taksona u ovim uzorcima biofilma.
- Utvrđivanje detaljne morfologije biofilma reprezentativnih uzoraka svetlosnim, konfokalnim i skening elektronskim mikroskopom opremljenim energetsko disperzivnim spektrofotometrom, sa posebnim akcentom na analizu retkih taksona i prikaz izgleda različitih uzoraka biofilma u kome dominiraju različite morfološke i ekološke grupe cijanobakterija i algi.
- Petrografska analiza stenovitog supstrata na nivou pećine.
- Obrada dobijenih rezultata u programu za multivarijantnu analizu ekoloških podataka – CANOCO.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Opis istraživanih pećina

Prema unapred definisanom planu, uzorkovanje je vršeno u odabranim pećinama zapadne, istočne i jugoistočne Srbije tokom 2014., 2015. i 2016. godine (ukupno 15 pećina (Slika 4)). Sledеće pripadaju geostruktурној jedinici Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije: Božanina pećina, Ribnička pećina, Hadži Prodanova pećina, Rćanska pećina, Degurićka pećina i Petnička pećina. Odabrane pećine Karpato-balkanskog karsta obuhvatile su lokalitete istočne i jugoistočne Srbije. Pećine istočne Srbije su: pećina Vernjikica, Lazareva pećina, pećina kod Sove, Bogovinska pećina i Mandina pećina, a jugoistočne Srbije: pećina Samar, pećina Jezava, Cerjanska pećina – vrelo kod Kravlja i Prekonoška pećina.



Slika 4. Pećine sa teritorije Srbije u kojima je vršeno uzorkovanje: 1 – Božanina pećina, 2 – Ribnička pećina, 3 – Hadži Prodanova pećina, 4 – Degurićka pećina, 5 – Rćanska pećina, 6 – pećina Vernjikica, 7 – pećina kod Sove, 8 – Lazareva pećina, 9 – Bogovinska pećina, 10 – Mandina pećina, 11 – Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravlja, 12 – Prekonoška pećina, 13 – Petnička pećina, 14 – pećina Samar i 15 – pećina Jezava.

Što se tiče podele na osnovu hidrogeološke funkcije, pećine se takođe mogu svrstati u grupe u zavisnosti od toga da li su u pitanju pećine sa stalnom i povremenom hidrološkom funkcijom, speleološki izvorski objekti (vrela) i speleološki objekti sa složenom hidrogeološkom funkcijom (ponor – izvor). Pravi ponori nisu uključeni u studiju, a neke pećine spadaju u grupu suvih i hidrološki neaktivnih speleoloških objekata.

3.1.1. Božanina pećina

Božanina pećina (Slika 5) se nalazi u zapadnoj Srbiji, u Zlatiborskem okrugu, u selu Visoka, opština Arilje ($43^{\circ} 38' 12,5''$ N; $19^{\circ} 55' 25,21''$ E).



Slika 5. Božanina pećina.

Pećina je poznata kao Božanina pećina samo lokalnom stanovništvu i nije lako pristupačna, niti istražena. Ova mala krečnjačka pećina ima ulaz oblika trougla koji je širok oko 20 m i visok oko 7 m (kada se meri najveća udaljenost od zemlje). Ispred ulaza koji je okrenut ka jugozapadu, zapažena je razvijena vegetacija (nisko rastinje, kao i drveće). U pećini je primetno prisustvo prokapnih voda. Onoliko koliko je nama bilo vidljivo, pećina nije duboka. Međutim, s obzirom na to da ovaj kraj nije istražen, ne

može se pouzdano govoriti o njenoj dubini i potencijalnim geološkim karakteristikama. Takođe, faunističke studije nikada nisu rađene.

3.1.2. Ribnička pećina

U zapadnom delu Srbije, u dolini reke Ribnice, pritoke Kolubare, u selu Paštrić, 9 km južno od Mionice nalazi se jedinstvena pećina u Srbiji, speleološki objekat od značaja, Ribnička pećina ($44^{\circ} 12' 20,27''$ N; $20^{\circ} 5' 32,59''$ E). Pećina leži na visini od 231 m n.v. u podnožju krednog odseka i nalazi se 1 m iznad korita reke Ribnice (Slika 6).



Slika 6. Ribnička pećina.

Ulaz je oblika trougla, 12 m visok i 25 m širok. Ukupna dužina pećine je 123 m i karakteriše je postojanje jedne glavne dvorane čije je dno prekriveno rečnim sedimentom iz koje se grana nekoliko kraćih kanala. Iz jednog od njih sifonski ističe rečni tok, protiče kroz glavnu dvoranu i uliva se u Ribnicu. Pećina je poznata i po veoma raznovrsnoj fauni slepih miševa, od kojih su 15 vrsta stalni stanovnici ove pećine (Đurović 1998). U pećini su pronađeni i dokazi boravka lovaca s kraja ledenog doba – ognjišta, alati i oruđa (<http://mionica.co.rs/ribnicka-pechina-selo-pastric>). S obzirom na dimenzije pećinskog ulaza i glavne dvorane Ribničke pećine, pećinska mikroklima je

pod značajnim uticajem sezonskih, a verovatno i dnevnih kolebanja meteoroloških činilaca (pre svega temperature) spoljašnje sredine.

3.1.3. Hadži Prodanova pećina

U zapadnoj Srbiji, sedam kilometara od Ivanjice, u dolini Raščanske reke, desne pritoke Moravice nalazi se još jedno prirodno zaštićeno dobro, Hadži Prodanova pećina ($43^{\circ} 37' 38,78''$ N; $20^{\circ} 14' 25,30''$ E). Hadži Prodanova Pećina je dobila ime po Karađorđevom vojvodi Hadži-Prodanu Gligorijevicu, koji je tokom srpskog ustanka 1814. godine, poznatog kao Hadži Prodanova buna, u pećinu sklanjao zbegove od Turaka (<http://www.panacomp.net/hadzi-prodanova-pecina/>). Kraški predeo gde se pećina nalazi čine srednje i gornje trijaški masivni krečnjaci male debljine. Karakteristika krečnjaka je prisustvo velikog broja dubokih, najčešće vertikalnih pukotina, pri čemu se i sam otvor pećine nalazi odmah uz jako proširenu pukotinu koja preseca krečnjački odsek od vrha do dna (Petrović 1976). Ulaz u Hadži Prodanovu pećinu (Slika 7) leži na visini od 630 m, oko 25 m iznad dna doline, a ukupna dužina ispitanih kanala iznosi 420 m.



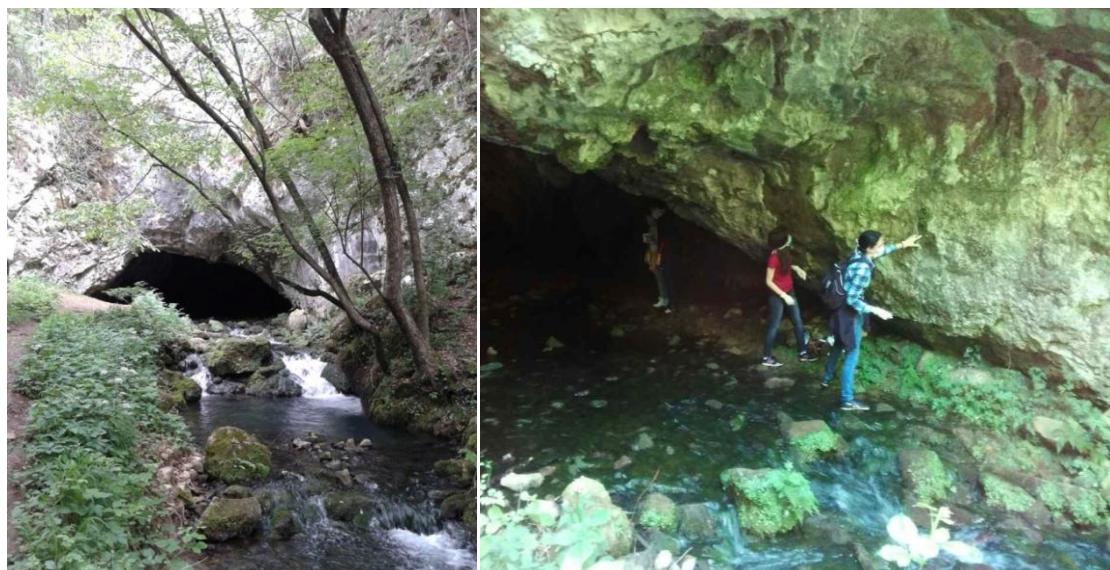
Slika 7. Hadži Prodanova pećina (fotografija levo preuzeta sa <http://www.panacomp.net/hadzi-prodanova-pecina/> (03.07.17.)).

Na ulazni kanal nadovezuju se dvorane bogate pećinskim nakitom – gornja, srednja i donja, od kojih se razvijaju i bočni kanali. Razlikuju se dva sprata – viši i niži. Viši sprat Hadži Prodanove pećine počinje od kanala iz gornje dvorane i čini ga prostran hodnik sa više proširenja i manjih suženja, koji se neprekidno penje i završava na svega 10-ak metara ispod površine krečnjačke zaravni. Dnom kanala se sliva voda i ujezerava u nižim dvoranama, gde se nalazi i ponor. Ispitani kanali Hadži Prodanove pećine su suvi i bez vodenog toka, a hidrološka aktivnost se ogleda jedino u provođenju prokapnih voda. Međutim, ispred ulaza u pećinu postoji kraško vrelo, koje ukazuje na to da je ona postala radom izvorskog podzemnog toka (Đurović 1998). Temperatura vazduha u pećini se koleba tokom godine i zavisi od položaja kanala (Petrović 1976). Evolucija pećine se odvijala u sledeće tri faze: inicijalna tektonska faza, hidrološka faza vezana za period stvaranja Brezovačke površi kada su svorenici kanali i dvorane mehaničkim radom reke i treća faza koja nastupa nakon stvaranja Brezovačke površi, faza fosilizacije, pri čemu pećina ostaje suva (Đurović 1998).

3.1.4. Degurićka pećina

Degurićka pećina (Slika 8) se nalazi u zapadnoj Srbiji, u opštini Valjevo, u selu Degurić, sa desne strane reke Gradac i leži na 216 m nadmorske visine ($44^{\circ} 14' 17,44''$ N; $19^{\circ} 53' 01,90''$ E). Ukupna dužina istraženih kanala donedavno je iznosila 520 m, pri čemu se smatralo da pripada grupi prostih speleoloških objekata izvorskog tipa. Međutim, najnovija istraživanja otkrila su postojanje velikog broja bočnih kanala, kao i pet sifona, čime ona postaje najduža pećina Lelićkog karsta (Milanović 2012). Ulaz je 5 m širok i 3 m visok (Petrović 1976). Kanal koji kreće od samog ulaza meandarskog je tipa, njegovo dno je prekriveno rečnim nanosom i do kraja pećine ima ujednačen profil. Podzemni tok u većem delu pećine takođe uglavnom meandrira. Prečage se zapažaju na više mesta u pećini, pri čemu se iza poslednje nalazi jezero koje prelazi u sifon. Degurićka pećina predstavlja aktivan speleološki izvorski objekat (vrelo) – aktivnu izvorskiju rečnu pećinu, sa stalnim tokom Degurićke reke (Đurović 1998). Njen visinski položaj je takav da joj omogućava da prihvata sve ponorske vode sa šireg područja (Petrović 1976). Što se nakita tiče, spada u siromašnije pećine, samo ponegde postoje manje skupine stalaktita i stalagmita. Što se troglobiontskih vrsta faune tiče, do 1998. je

zabeleženo da pećinu naseljava samo jedna vrsta račića – *Mesoniscus graniger* (Đurović 1998).



Slika 8. Degurićka pećina.

3.1.5. Rćanska pećina

Rćanska pećina (koju čine Velika, Suva i Sleva pećina i Ponor – ponorska jama Bezdan) nalaze se u zapadnoj Srbiji (Slika 9), sa leve strane istoimene Rćanske reke, pritoke Bjelasice, kod sela Rti u opštini Lučani ($43^{\circ} 44' 2,70''$ N; $20^{\circ} 14' 29,37''$ E). Pećine i ponor su izgrađeni u gornjokrednim krečnjacima koji se pružaju u obliku pojasa, pravca severozapad-jugoistok. Ponorski ulaz leži na visini od 520 m, dok je izvorski na 402 m nadmorske visine, 32 m iznad korita reke. Kanal ponorskog dela je 172 m dug, a 65 m dubok. Izvorski deo Velike pećine (380 m dužine) čine tri kanala: glavni, rečni i suvi. Glavni kanal ima kanjonski izgled i njegovo dno je stenovito sa prelomima, rečni kanal je sličnih morfoloških karakteristika i završava se sifonskim izvorom, a suvi kanal je van hidrološke funkcije i dno mu je pokriveno debelim slojem rečnog materijala. Kroz glavni i rečni kanal periodično protiče rečni tok (Đurović 1998). Formiranje Suve pećine završeno je krajem pleistocena. Sleva pećina nastaje tokom kasnijeg pleistocena, a stvaranje Velike pećine počinje tokom srednjeg pleistocena. Prvobitno, podzemni tok je prvo isticao iz Suve pećine, zatim i kroz susednu Slevu pećinu, a otvaranjem nižih pukotina i daljim spuštanjem počinje stvaranje Velike pećine

i podzemni tok izbija na izvoru koji je 10 m iznad korita Rćanske reke (Đurović 1998). Rćanska pećina predstavlja speleološki sistem sa zanimljivim geomorfološkim i hidrološkim osobinama, karakteriše se bogatstvom i raznovrsnošću oblika kalcita i travertina, obiluje raznovrsnim i raznobojnim nakitom i među tridesetak je najistraženijih speleoloških objekata u Srbiji. Uzorkovanje je vršeno na ulazu Velike pećine.



Slika 9. Rćanska pećina.

3.1.6. Pećina Vernjikica

Pećina Vernjikica (Slika 10) se nalazi na levoj strani kanjona Lazareve reke ($44^{\circ} 01' 34,85''$ N; $21^{\circ} 56' 59,90''$ E) i udaljena je oko 5 km od sela Zlot, a 1,5 km od Lazareve pećine sa kojom je spojena stazom. Naziv pećine najverovatnije potiče od vlaške reči “var”, što znači krečnjak (<http://www.rasen.rs/2016/10/pecine-srbije-vernjikica/#.WuVr4IhubIU>), ali prema Lazarević (1998) ime potiče od vlaške reči vrenjika, što znači vredna, vlijiva, izvanredna. Gornji ulaz se nalazi na oko 150 m iznad korita Lazareve reke, odnosno na nadmorskoj visini od 454 m. Dužina istraženih kanala iznosi 1015 m. Pećinu čini jedan silazni kaskadni kanal koji spaja nekoliko dvorana (naizmenično se smenjuju suženja i dvorane), pri čemu je najveća dvorana kružnog oblika, prečnika 50 – 60 m i visine preko 50 m. Vernjikica spada u red suvih pećina,

nastala u suvim krečnjacima, što je od značaja za izgled nakita koji je oblika najrazlčitijih stalaktita, stalagmita, stubova i draperija koje ukrašavaju dvorane. Nju je stvorila Lazareva reka koja je ponirala na levoj dolinskoj strani klisure, izgradivši podzemni meandar i nakon toga opet izbijala na istoj dolinskoj strani. Prvi ponor je najverovatnije bio kod sadašnjeg ulaza, a kasnje se pojavio uzvodniji. Samo male i srednje vode su ponirale, dok su velike vode i dalje tekle glavnim koritom Lazareve reke. Brzim usecanjem Lazareve reke prestaje erozivna faza stvaranja pećine koju zamenjuje akumulativna faza, kada se stvara i bogat pećinski nakit. Od fosilne faune prisutan je *Ursus spelaeus* (pećinski medved).



Slika 10. Pećina Vernjikica (prva slika preuzeta sa https://www.panoramio.com/user/3463259?photo_page=4 (03.07.17.), a druga slika preuzeta sa <https://www.trecator.ro/europa-serbia/pestera-vernjikica/> (03.07.17.)).

3.1.7. Pećina kod Sove

Nalazi se pri vrhu krečnjačkog huma Sovina glava, na visini od 416,78 m (Slika 11), nedaleko od staze koja spaja Vernjikicu i Lazarevu pećinu i nedaleko od vidikovca sa kojeg se pruža pogled na Lazarev kanjon ($44^{\circ} 01' 43,80''$ N; $21^{\circ} 57' 13,49''$ E). Ulaz je širok 5,3 m, a visok 4,0 m, a pored širokog ulaza ima i ovalni "prozor" prečnika 0,7 m. Ukupna dužina kanala iznosi 29,7 m. Pećina je osvetljena, suva i sa debelim naslagama

guana po podlozi. Po projektu za uređenje Vernjikice, u pećini bi bio smešten "Bife kod Sove" u koji bi posetioci svraćali (Lazarević 1998).



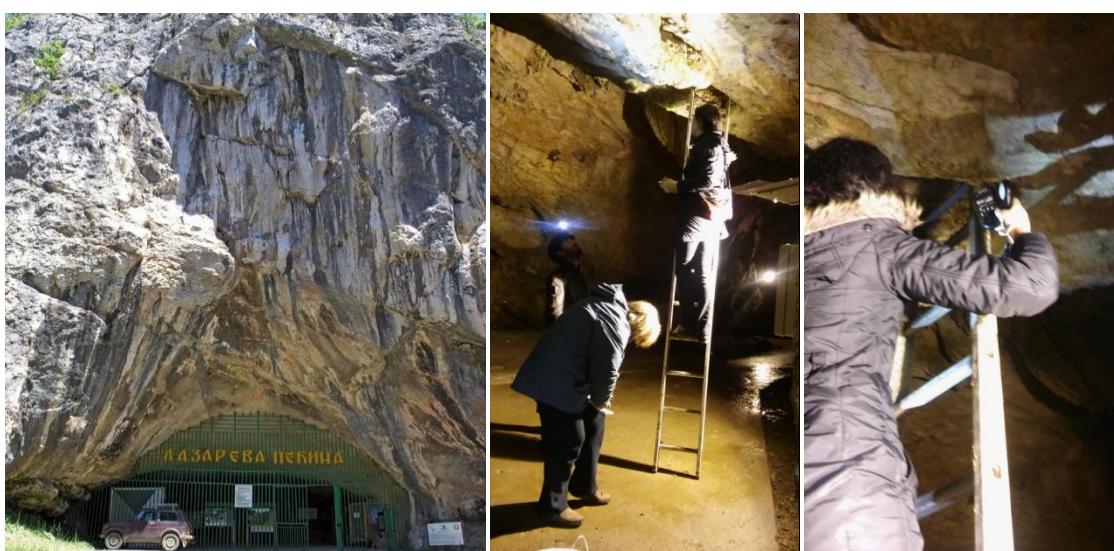
Slika 11. Pećina kod Sove i vidikovac sa kojeg se pruža pogled na Lazarev kanjon.

3.1.8. Lazareva pećina

Lazareva pećina (Slika 12) se nalazi u istočnoj Srbiji, u istočnom delu planine Kučaj, tri kilometra severozapadno od sela Zlot ($44^{\circ} 01' 44,07''$ N; $21^{\circ} 57' 44,54''$ E). Po legendi koja živi u Zlotu Lazareva pećina je dobila ime po knezu Lazaru. Ostaci srpske vojske su se posle bitke na Kosovu, bežeći pred Turcima, sklonili u pećinu, gde su neko vreme i živeli (Lazarević 1998).

Na ovim istočnim padinama Kučaja, krečnjaci koji potiču iz donje krede debeli su po više stotina metara i njih u predelu Lazareve pećine preseca jedino dubok Lazarev kanjon (Petrović 1976). Ulaz u pećinu leži na 291 m nadmorske visine, odnosno 7 m iznad rečnog korita Lazareve reke (Đurović 1998). Ulaz je širok 19 m, a visok 6 m. Dužina kanala pre proronjavanja sifona iznosila je 1721 m, da bi nakon otkrića novih kanala, dužina bila znatno povećana (Milanović 2012). Istraživanja su još uvek u toku tako da je dužina pećinskih kanala zapravo veća od 10 000 metara, a prema nezvaničnim informacijama speleologa, dostignut je 13 – ti kilometar. Za turističke posete uređene su staze dužine od 900 metara. U pećini postoje tri vrste kanala – suvi (fossilni), povremeno aktivni i stalno aktivni kanali (rečni). Stvaranje Lazareve pećine

ima veze sa evolucijom Lazareve reke odnosno sa udubljivanjem kanjona Lazareve doline. Pećina je stvorena mehaničkim i hemijskim radom vrelskog toka (Đurović 1998). Na osnovu hidrogeološke kategorizacije, spada u stalno aktivne speleološke objekte (Milanović 2012). U pećini su pronađeni fosilni ostaci pećinskog medveda (*Ursus spelaeus*), pećinskog lava (*Panthera spelaea*) i pećinske hijene (*Crocula spelaea*). Takođe zabeleženo je i prisustvo velikog broja troglobiontskih predstavnika invertebrata, od kojih su mnogi endemiti (Đurović 1998).



Slika 12. Lazareva pećina (foto: Bojan Gavrilović).

3.1.9. Bogovinska pećina

Bogovinska pećina (Slika 13) se nalazi u istočnoj Srbiji, u istočnoj podgorini Kučaja, nedaleko od sela Bogovina i leži na 266 m nadmorske visine ($43^{\circ} 53' 49,41''$ N; $21^{\circ} 55' 30,64''$ E). Spada u jednu od najvećih pećina u Srbiji: samo glavni kanal je dužine 2496 m, a pored njega zabeleženo je postojanje velikog broja sporednih kanala koji se uglavnom sifonski završavaju. Predstavlja razgranati – etažni izvorski speleološki objekat meandarskog tipa (Milanović 2012), pri čemu su kanali raspoređeni u tri nivoa: visoki, glavni i ponorski. Visoki kanal jako meandrira, a na mestima gde prolazi iznad glavnog kanala je prekinut. Glavni kanal obiluje pećinskim nakitom i kroz njega povremeno protiče rečni tok. Ponorski kanal pripada najnižem nivou, pruža se ispod glavnog kanala i kroz njega stalno protiče vodeni tok. Evolucija pećine se odvijala

u tri faze. Prvo je formiran sistem visokih kanala, a nakon spuštanja vrela u nivo današnjeg ulaza, izgrađen je glavni kanal. U poslednjoj fazi stvara se najniži sistem kanala poniranjem pećinske reke ispod glavnog kanala. U Bogovinskoj pećini živi više endemičnih vrsta koje predstavljaju relikte i potomke nekadašnje površinske faune (Đurović 1998).

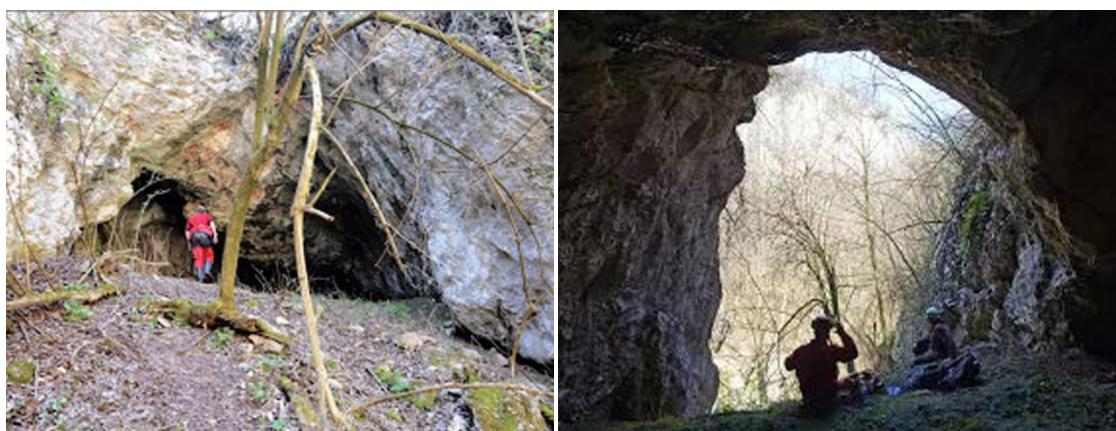


Slika 13. Bogovinska pećina (slika preuzeta sa <http://anta019.blogspot.rs/2015/12/bogovinska-pechina.html> (04.07.17.)).

3.1.10. Mandina pećina

1976. godine otkrivena je jedna pećina nedaleko od Lazarevog kanjona od strane Speleološke grupe Radenka Lazarevića. Mladi istraživači dali su joj ime "Mandina pećina" (Slika 14) u spomen svog stradalog druga speleologa Vladimira Mandića – Mande koji je bio član Speleološke sekcije iz Valjeva, a koji je tragično stradao na Durmitoru 1969. godine. Pećina je smeštena u jednoj suvoj dolini koja se vezuje za Zlotsku reku, na visini od 370,05 m ($44^{\circ} 03' 24,18''$ N; $21^{\circ} 56' 29,18''$ E). Pećinski ulaz visine 6 m pruža se u dužini od 18 m nakon čega se kanal sužava u mali prolaz prečnika od oko 50 cm. Ovaj prolaz nosi ime Čika Jankov prolaz i probijen je ručnim alatom kako bi se pristupilo unutrašnjosti pećine. Dužina glavnog pećinskog kanala je 362,5 m, a ukupna dužina svih kanala iznosi 410 m. Ono što ovu pećinu čini posebnom je

raznovrstan i bogat pećinski nakit gde se posebno izdvajaju stalagmiti i draperije jarko crvene do braon čokolada boje. Glavni razlog zašto se još uvek nije pristupilo uređenju pećine jeste prisustvo specifičnog podnog nakita koji je potrebno sačuvati od bilo kakvih oštećenja. Prilikom istraživanja pećine, zapaženi su i ostaci pećinskog medveda (Lazarević 1998).



Slika 14. Mandina pećina (slike preuzete sa <https://get.google.com/albumarchive/107614549884609524708/album/AF1QipOqG2JC3IPesrcmVgJLKjOsGp20dFoKVjD3ZyI> (07.07.17.)).

3.1.11. Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravlja

Cerjanska pećina (Slika 15) se nalazi na severnim obroncima Kalafata, blizu sela Cerje, 15 km od Niša (http://www.asak.org.rs/caves/cerje/cerje_y.html). Prema procenama geologa, stara je više od dva miliona godina (https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Cerjanska-pecina-neistrazen-raj-pod-zemljom_sr.html). Ulaz u pećinu, na nadmorskoj visini od 515 m, predstavlja ponor rečice Provalije, koja ponovo izvire na Kravljkanskom vrelu, 2800 m severozapadno, na nadmorskoj visini od 310 m. Izrazito je bogata pećinskim nakitom gde se osim uobičajenih stalaktita i stalagmita, nalaze i heliktiti ili pećinske ruže koji predstavljaju posebnu vrstu pećinskog nakita. Spada među najveće pećine na teritoriji Srbije i do sada je istraženo više od 6 km kanala (Petrović 1976, http://www.asak.org.rs/caves/cerje_cerje_y.html, https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Cerjanska-pecina-neistrazen-raj-pod-zemljom_sr.html). Pripada tipu ponorskih, razgranatih speleoloških objekata, sa povremenom hidrogeološkom i

stalnom hidrološkom funkcijom (Milanović 2012). Vrelo kod Kravlja ima karakteristike sifonskih vrela sa istraženim kanalima do dubine 13 m, a uočen je i dalji nastavak kanala (dalje proronjavanje je bilo neuspešno) (Milanović 2012). Uzorkovanje je vršeno na ulaznom delu vrela kod Kravlja ($43^{\circ} 27' 07,74''$ N; $21^{\circ} 55' 22,81''$ E).



Slika 15. Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravlja.

3.1.12. Prekonoška pećina

Nalazi se na levoj strani Prekonoške reke, leve pritoke Svrljiškog Timoka, 1,5 km južno od sela Prekonoga ($43^{\circ} 5' 50,03''$ N; $22^{\circ} 06' 05,61''$ E), nedaleko od Svrljiga (Slika 16). U ovom delu Svrljiških planina krečnjaci nisu deblji od 300 m, a oni koje je usekla Prekonoška reka ispresecani su dubokim pukotinama, a karakteristična je i pojava velikog broja vrtača. Prekonoška pećina ima dva ulazna otvora, glavni leži na 525 m, a sporedni na 510 m nadmorske visine. Glavni ulaz u pećinu je širok 4,5 m, visok 3 m, a sama pećina duga je 435 m. Ulagani deo je predstavljen jednostavnim kanalom čije je dno prekriveno drobinskim materijalom i debelim slojem gline, a drugi deo pećine se karakteriše velikim brojem isprepletanih sporednih kanala koje krasi raznovrstan pećinski nakit. Što se hidroloških odlika pećine tiče, svedene su na prikupljanje prokapnih voda koje u pećinu dospevaju kroz pukotine i bočne kanale, formirajući stalna i povremena manja jezera. Prokapne vode su veoma česte u periodu

kiša, a postaju retke odmah nakon prestanka padavina. Prekonoška pećina je nastala erozijom Prekonoške reke, koja je najpre tekla u nivou pećine, a tek kasnije je svoje korito produbila za 120 m (Đurović 1998; Petrović 1976). Prekonoška pećina zajedno sa Velikom i Malom dupkom predstavlja deo pećinskog sistema koji je izgradila ponornica Dobra reka (<http://safari.rs/aktivnosti/speleologija/prekonoga/>). Pored fosilne faune (pećinski medved, pećinski lav, kozorog), pronađeni su i dokazi o životu paleolitskog i neolitskog čoveka (Đurović 1998; Petrović 1976). Još je kralj Milan Obrenović nakon članka Feliksa Hofmana “Tragovi praistorijskog čoveka u Srbiji” iz 1882. godine uvideo potencijal ovog geološkog blaga, nakon čega Prekonoška pećina postaje prva pećina na Balkanu otvorena za turiste. Krajem 19. veka ovu pećinu su istraživali mnogi naučnici, ali i pored toga, pećina i dalje nije u potpunosti istražena (<https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Sta-cuva-Prekonoska-pechina-koju-je-pre-133-godine-otvorio-Obrenovic.sr.html>). Pećina trenutno nije uređena, niti prilagođena za posetioce (Đurović 1998; Petrović 1976).



Slika 16. Prekonoška pećina: levo – donji ulaz, desno – gornji ulaz.

3.1.13. Petnička pećina

Petnička pećina (Slika 17) se nalazi se u selu Petnica, 7,5 km jugoistočno od Valjeva ($44^{\circ} 14' 43,45''$ N; $19^{\circ} 56' 8,51''$ E). Izgrađena je u srednje i gornje trijaskim masivnim krečnjacima male debljine koji su ispresecani pukotinama i koje odlikuje

prisustvo brojnih vrtača, suvih i slepih dolina (Petrović 1976). Sastoji se iz Donje – Velika pećina (ulaz na 178 m n.v.) i Gornje pećine – Mala pećina (ulaz na 199 m n.v.), koje su spojene u jedinstvenu celinu i splet kanala dužine 580 m (Đurović 1998). Velika pećina ima izgled prostrane potkapine, dok je mala pećina daleko prostranija i složenija (Petrović 1976). Kroz Donju pećinu protiče stalni voden tok, a Gornja pećina je suva sa različitim procesima akumulacije (Đurović 1999). Pećina pripada grupi razgranatih etažnih speleoloških objekata sa stalno aktivnim i fosilnim kanalima sa dva pećinska nivoa – rečnim i suvim (Milanović 2012). Stvaranje pećine je posledica povlačenja neogenog jezera nakon čega reka Zlatar proseca neogene sediment, dospeva do krečnjaka i ponire na kraju slepe doline. Tokom ove faze vode Zlatara su isticale iz gornje pećine, ali se spuštanjem rečne doline podzemni tok izmešta i ističe iz donje pećine. U pećini je pronađen veliki broj fosilnih ostataka različitih vrsta životinja, a danas se u njoj mogu naći tipične troglobiontske vrste među kojima je i veliki broj endemita (Đurović 1998). Nađeni su dokazi obitavanja praistorijskog čoveka. Takođe, predstavlja pećinu koja je prva biološki istražena (Petrović 1976). Uzorkovanje je vršeno na ulaznom delu Donje (Velike) pećine.



Slika 17. Petnička pećina (foto: Bojan Gavrilović).

3.1.14. Pećina Samar

Pećina Samar (Slika 18) se nalazi u jugoistočnoj Srbiji, u selu Kopajkošare, nedaleko od Svrljiga ($43^{\circ} 26' 45,65''$ N; $21^{\circ} 58' 34,41''$ E). Pripada slivu Kopajske reke, pritoke Toponičke reke.



Slika 18. Pećina Samar.

Ima dva ponorska ulaza (Sudvek na 538 m n.v. i Žljebara na 540 m n.v.) i jedan izvorski ulaz (Veliki pešter na 478 m n.v., Đurović 1998). Rastojanje između ponora i vrela iznosi 2,8 km, pri čemu vertikalna razlika iznosi oko 40 m (Petrović 1976). Pećina spada u grupu razgranatih tunelskih speleoloških objekata, a u hidrogeološkom smislu, pripada grupi povremeno aktivnih speleoloških objekata (Milanović 2012). Pećina se sastoji iz tri morfološke celine: glavnog kanala (sa četiri sifonska suženja, ukupne dužine 1940 m), ostatka kanala višeg nivoa (nalaze se na 5 do 8 m iznad glavnog kanala i završavaju se pećinom Veliki pešter) i kanala bočnih pritoka (ukupne dužine od 1227 m) (Đurović 1998). Erozija izazvana ponornicama Žljebara i Sudvek stvorila je pećinu Samar. Ponornice imaju periodičan tok, a na samom kraju pećine javlja se stalni tok podzemne reke koji izbija kao sifonsko vrelo. Podzemni tok je prvo tekao kroz kanale koji su danas na 5 do 8 m iznad glavnog kanala i isticao kroz Veliki pešter, a sada maksimalne vode polaze kroz glavni kanal (Đurović 1998). Hidrološke odlike pećine Samar zavise od stalnog toka Kopajske reke, a podzemni tok vrši jako veliki rad, noseći

kroz pećinu velike količine peska i šljunka. Mikroklimatski parametri zavise od količine i temperature vode, ali i od konfiguracije pećinskih prostorija. Jedan poduhvat početkom sedamdesetih godina proslavio je kako pećinu i samo selo, tako i speleologa Milutina Veljkovića. Milutin Veljković je od juna 1969. godine, sprovodeći naučni eksperiment, sam i zazidan u pećini boravio neprekidno ukupno 464 dana. Tim poduhvatom je oborio svetski rekord u boravku pod zemljom koji je do tada, sa 109 dana, držao Francuz Anri Fiout. Nakon ovoga, Milutin je o svom boravku u pećini Samar izdao i knjigu "Pod kamenim nebom" koja se bazira na dnevniku koji je uredno vodio (Petrović 1976, <https://www.juznevesti.com/Drushtvo/ Pecina-Samar-od-svetski-poznate-do-zaboravljenе.sr.html>). Uzorkovanje je vršeno na oba ulaza (mali i veliki ulaz) koja se vide na Slici 18.

3.1.15. Pećina Jezava

Pećina Jezava (Slika 19) se nalazi u jugoistočnoj Srbiji, kod sela Kopajkošare u opštini Svrlijig ($43^{\circ} 26' 47,77''$ N; $21^{\circ} 58' 33,26''$ E).



Slika 19. Pećina Jezava.

Kao i pećina Samar, pripada slivu Kopajske reke, pritoke Toponičke reke. Spada u speleološke objekte sa složenom hidrogeološkom funkcijom (ponor – izvor), a hidrološki pripada grupi povremeno aktivnih speleoloških objekata (Milanović 2012). Ponorski ulaz leži na 550 m n.v. Veza između ponorskog i izvorskog dela se povremeno prekida akumuliranjem rečnog materijala. Pećina se sastoji iz glavnog kanala i spleta kanala na različitim nivoima, pri čemu ukupna dužina svih kanala pećine iznosi 888 m. Nastanak pećine se vezuje za fluvio-kraški process potoka Bigar. Potok Bigar je u fluvijalnoj fazi prvo tekao površinski usecajući dolinu. Pojava ponora na kontaktu krečnjaka i permskih peščara označava početak nastanka pećinskog sistema. Dalju ulogu u evoluciji igra usecanje Kopajske reke (Đurović 1998).

3.2. Odabir tačaka uzorkovanja

Prilikom dolaska u određenu pećinu, neposredno pre samog uzorkovanja, prvo su beleženi osnovni podaci o pećini: GPS koordinate, nadmorska visina, ekspozicija ulaza i vremenske prilike. Za ove parametre, korišćena je aplikacija sa mobilnog telefona. Nakon upisivanja ovih osnovnih podataka za svaku pećinu, bilo je potrebno odabrati mesta sa kojih će biofilm biti uzorkovan. Radi odabira odgovarajućih tačaka uzorkovanja, ulazni deo pećine i/ili unutrašnji deo pećine, gde je primećen razvoj biofilma, bi prvo bio detaljno pregledan. Od interesovanja je bilo uzorkovati što različitije biofilmove: vodilo se računa da se biofilmovi pre svega razlikuju po boji, debljini – razvijenosti i vlažnosti. Pri tom je većina odabranih tačaka uzorkovanja bila na zidu pećine, sa leve i/ili desne strane, a manji broj se nalazio na tavanici, podu pećine ili izolovanoj steni na sredini glavnog pećinskog kanala. Detaljan opis biofilma, kao i podaci o položaju svake tačke uzorkovanja su takođe beleženi. Na određenim tačkama pojedinih pećina zapažen je i razvoj endolitskih algi, koji se manifestovao najčešće zelenom obojenosću stenovitog supstrata. Ovakve tačke uzorkovanja su takođe uzete u obzir. Broj samih tačaka uzorkovanja je varirao od pećine do pećine i zavisio je od prisusva i razvijenosti biofilma (broj tačaka uzorkovanja po pećini kretao se od tri do osam). Udaljenost svake tačke uzorkovanja od ulaza pećine ili od reflektora, ukoliko je uzorkovanje vršeno u unutrašnjosti turistički adaptiranh pećina, merena je pomoću metra.

3.3. Merenje ekoloških parametara

Nakon odabira adekvatnih mesta na kojima će biofilm biti uzorkovan, na svakoj tački uzorkovanja direktno su mereni sledeći parametri: temperatura vazduha (T) izražena u stepenima celzijusa ($^{\circ}\text{C}$), relativna vlažnost vazduha (RV) izražena u procentima (%) i intenzitet svetlosti (IS) izražen u luksima (Lux). Vodilo se računa i o tome, koliko god je to bilo moguće, da se biofilm uzorkuje i na mestima koja bi pokazala najveće varijacije u vrednostima ovih parametara. Na primer, uzorkovalo se na mestima sa primetnim različitim intenzitetima svetlosti: od veoma niskih u dubljem delu pećine, do veoma visokih na samom ulazu pećine. Temperatura vazduha i relativna vlažnost vazduha mereni su aparatom EXTECH Temperature Humidity Meter, dok je intenzitet svetlosti meren koristeći aparat Velleman DMV 1300 Luxmeter.

3.4. Prikupljanje uzoraka

Uzorci iz odabranih pećina prikupljeni su u periodu od 2013. do 2016. godine. Uzorkovanje biofilma je u većini pećina vršeno jednom, osim u pećinama Samar i Jezava, kod kojih su uzorci uzimani sezonski (četiri puta u toku godine). Uzorkovanje biofilma vršeno je na sledeće načine: metodom ahezivne trake (Gaylarde i Gaylarde 1998), struganjem biofilma koristeći skalpel i struganjem biofilma koristeći skalpel i okrugle kalupe koji pokrivaju tačno određenu površinu stenovitog supstrata. Na većini lokaliteta uzorkovan je samo biofilm, a jedino su u Cerjanskoj i Petničkoj pećini uzeti i uzorci za analizu endolitskih cijanobakterija i algi. Nastojalo se takođe da se iz svake pećine uzme deo stenovitog supstrata, kako bi se uradila petrografska analiza stene.

3.4.1. Metoda adhezivne trake

Metoda adhezivne trake je korišćena radi detaljnije kvalitativne analize cijanobakterija i algi. Ova metoda podrazumeva korišćenje mikroskopskih pločica i adhezivne trake, na terenu. Nekorišćene mikroskopske pločice pre dolaska u odabranu pećinu potrebno je složiti u plastičnu kutiju za mikroskopske preparate. Pre početka uzorkovanja, obavezno se zaštiti mikrobiološkom maskom i rukavicama, zbog

potencijalne opasnosti od patogena koji mogu biti prisutni u pećinskim staništima. Dužina adhezivne trake koja se koristi za uzorkovanje biofilma treba da bude nešto veća od dužine mikroskopske pločice. Adhezivna traka se pažljivo hvata za oba kraja, kako sa lepljive strane na koju treba da se zapeči biofilm (u središnjem delu), ne bi ostali otisci prstiju. Zatim se lagano prisloni na površinu supstrata sa koga se uzorkuje biofilm i nežno se pritisne. Nakon toga, polako se odlepi sa površine supstrata i zapeči na mikroskopsku pločicu koja je obeležena brojem uzorka. Obeležene mikroskopske pločice se pakaju u kutiju za mikroskopske preparate i transportuju u laboratoriju. Po dolasku u laboratoriju, između mikroskopske pločice i adhezivne trake stavi se kap glicerina, kako bi se olakšalo posmatranje i mikroskopiranje uzoraka. Ovakve mikroskopske pločice se dugo mogu očuvati.

3.4.2. Uzorkovanje biofilma skalpelom

Skalpelom je uzorkovana veća količina biofilma koja je korišćena za: kvalitativnu i kvantitativnu analizu cijanobakterija i algi, pripremu materijala za izradu trajnih preparata silikatnih algi, analize biofilma na skening elektronском (SEM) i konfokalnom mikroskopу (CLSM). Kao i pri uzorkovanju biofilma adhezivnom trakom, obavezno je zaštititi se mikrobiološkom maskom i rukavicama. Na početku, ispod mesta sa kojeg će biofilm biti sastrugan, postavlja se sterilna plastična kesica obeležena brojem uzorka, kako bi biofilm tokom struganja upadao u nju. Biofilm se pažljivo struže skalpelom, kako bi se u potpunosti skinuo sa površine stenovitog supstrata, a da se pritom stenoviti supstrat ne ošteći. Skalpel se steriliše alkoholom i plamenom pre svake nove upotrebe, kako ne bi došlo do kontaminacije biofilmom iz prethodnog uzorka. Neke biofilmove je bilo lako uzorkovati (razvijeni želatinozni biofilmovi koji su se lako odvajali od stenovitog supstrata), dok je za druge bilo potrebno nešto više truda (suvi biofilmovi koji u tankom sloju prekrivaju površinu podloge). Sa svake tačke uzorkovana je određena količina biofilma, dovoljna za potrebne analize i skladištenje uzoraka. Kesice sa uzorcima biofilma se dobro zatvaraju i transportuju u laboratoriju. Nakon dolaska u laboratoriju, deo uzorka se odvaja za potrebne analize, deo se čuva u zamrznutom stanju, a deo se fiksira 4% rastvorom formaldehida. Uzorci su deponovani u algološku zbirku i obeleženi brojevima od T0001 – T0108.

3.4.3. Uzorkovanje biofilma skalpelom za kvantitativne analaze biofilma

Kako bi se precizno odredila koncentracija hlorofila *a* u uzorcima biofilma, a takođe i sadržaj vode, organske i neorganske materije, bilo je potrebno da se biofilm uzorkuje sa tačno određene, adekvatno obeležene, površine supstrata. U te svrhe, korišćen je jedan od dva metalna kalupa koji pokrivaju površinu od 3,14 i 7,06 cm². Kalup koji pokriva manju površinu supstrata, korišćen je ukoliko je biofilm bio razvijeniji, dok je kalup koji pokriva veću površinu supstrata korišćen za uzorkovanje tankih i slabo razvijenih biofilmova. Uzorci su posebno uzimani za analizu hlorofila *a*, a posebno za određivanje ostalih kvantitativnih parametara biofilma. Na početku, bilo je neophodno dobro pregledati mesto uzorkovanja, kako bi se pronašla odgovarajuća površina za uzorkovanje: idealno je bilo uzorkovati sa površine koja je bila ravna i sa što manje nesavršenosti (manja hrapavost, bez pukotina, bez šupljina, bez većih neravnina). Nakon odabira odgovarajućeg mesta, površina sa koje će biofilm biti sastrugan obeležena je na sledeći način: kalup se prislanja na stenoviti supstrat, dobro pritiska i okreće nekoliko puta u smeru kazaljke na satu ili obrnuto. Na taj način kalup dobro uranja u biofilm ostavljajući trag koji omogućava precizno struganje skalpelom. Kao kod prethodno opisanog postupka, ispod obeleženog mesta postavlja se sterilna plastična kesica obeležena brojem uzorka i ostalim potrebnim podacima, kako bi uzorkovani biofilm upadao u nju. Biofilm treba u potpunosti sastrugati sa obeležene površine, što znači da uzorkovanje treba izvoditi veoma pažljivo i detaljno. Kao što je već napomenuto, pre svake nove upotrebe, kalup i skalpel je potrebno sterilisati alkoholom i plamenom, a tokom samog procesa uzorkovanja biofilma, neophodno je koristiti mikrobiološku masku i rukavice. Kesice sa uzorkom biofilma za analizu hlorofila *a* se dobro zatvaraju i čuvaju u mraku na +4 °C, a nakon dolaska u laboratoriju, hlorofil *a* se odmah određuje. Što se tiče kesica u koje je uzorkovan biofilm za određivanje sadržaja vode, organske i neorganske materije u biofilmu, čvrsto se zatvaraju kako bi se onemogućilo isparavanje vode i takođe, do transporta u laboratoriju, čuvaju se u mraku na +4 °C.

3.4.4. Uzorkovanje endolitskih cijanobakterija i algi

Kao što je već pomenuto, na određenim tačkama pojedinih pećina (Cerjanska i Petnička pećina), zapažen je i razvoj endolitskih algi. Na ovakvim mestima, primetna je bila obojenost stenovitog supstrata, ali pošto epilitski rast nije bio prisutan, nije bilo materijala (biofilma) koji bi se sa podloge mogao uzorkovati skalpelom. U tim slučajevima, za kvalitativnu analizu cijanobakterija i algi, uzorkovan je stenoviti supstrat. U ovu svrhu birana su mesta na kojima je primećena značajna deterioracija pećinskog zida. Na takvim mestima, delovi pećinskog zida sa prisutnim endolitskim rastom često su odlomljeni ležali na podu pećine. Pre svega, skupljali smo ovakve uzorke, a ne direktno uzorke sa samog zida pećine, kako ne bi izazivali oštećenja.

3.4.5. Uzorkovanje stenovitog supstrata

Uzorak stene je uzet za sve pećine, osim za Mandinu i Bogovinsku pećinu. Takođe, i u ovu svrhu birana su mesta na kojima je primećena značajna deterioracija stenovitog supstrata, kako bi supstrat mogao biti uzorkovan bez razbijanja pećinskog zida. Uzorak stene nije uziman sa svake tačke uzorkovanja, jer bi taj postupak nepovratno oštetio prirodna dobra u kojima su vršena istraživanja.

3.5. Određivanje koncentracije hlorofila *a*

Sa svake tačke uzorkovanja, na poseban način kao što je predhodno opisano, uzorkovan je i biofilm iz koga smo određivali koncentraciju hlorofila *a*. Ovim podatkom dobijamo uvid u stepen primarne produkcije, odnosno količinu fotosintetički aktivnih organizama u biofilmu na tačno određenoj površini supstrata.

Nakon uzorkovanja biofilma prema metodi koja je opisana iznad, u laboratoriji je pristupljeno određivanju koncentracije hlorofila *a*. Uzorci biofilma su nakon pažljivog vađenja iz kesica prvo izmereni na analitičkoj vagi. Obeležene čašice od 100 ml u koje je sipano po 20 ml apsolutnog etanola stavljene su na laboratorijski rešo kako bi se etanol zagrejao. Nakon zagrevanja etanola, čašice su sklonjene sa rešoa i u etanol su ubaćeni uzorci biofilma. Topli etanol ubrzava ekstrakciju hlorofila *a* iz celija

fototrofa. Međutim, kako bi ekstrakcija bila efikasnija i kako bi bila ekstrahovana maksimalna količina hlorofila *a* iz uzoraka biofilma, uzorci u etanolu su homogenizovani koristeći stakleni štapić. Nakon dobre homogenizacije svakog uzorka i hlađenja sadržaja u čašicama, uzorci su profiltrirani kroz stakleni Sartorius MGC filter papir koristeći Sartorius vakuum pumpu. Ekstrakti su prebačeni u čiste staklene čašice, nakon čega je absorbanca filtrata merena na spektrofotometru (Cecil CE 2501) na 665 nm i 750 nm. Absorbanca je na ovim talasnim dužinama prvi put merena bez zakišljavanja, a potom je ekstrakt svakog uzorka zakišljen hlorovodoničnom kiselinom (dodata je 0,01 ml 3M HCl na 10 ml zapremine ekstrakta). Nakon 15 minuta, absorbanca je ponovo merena na istim talasnim duzinama. Nakon očitavanja apsorbanci, koncentracija hlorofila *a* (ρ_c) izražena u mikrogramima po centimetru kvadratnom ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) izračunava se po sledećoj modifikovanoj jednačini (ISO 10260:1992(E)):

$$P_c = (A - A_a) / K_c \times R / (R - 1) \times (10^3 V_e) / (V_s d)$$

$A = A_{665} - A_{750}$	- Absorbanca ekstrakta pre zakišljavanja;
$A_a = A_{665a} - A_{750a}$	- Absorbanca ekstrakta posle zakišljavanja;
V_e	- Zapremina ekstrakta izražena u mililitrima (ml)
V_s	- Masa uzorka izražena u gramima (g)
$K_c = 82 \text{ l}/\mu\text{g cm}$	- Specifični operacioni spektralni absorpcioni koeficijent za hlorofil <i>a</i>
$R = A/A_a$	- odnos A/Aa za rastvor čistog hlorofila koji je transformisan u feofitin acidifikacijom
d	- dužina putanje optičke ćelije (širina kivete izražena u centimetrima (cm))
10^3	- dimenzioni faktor koji odgovara V_e

Pošto je bilo potrebno da se proceni kolika je primarna produkcija po jedinici površine, na osnovu dobijenih podataka iz formule proporcijom je preračunato koliko mikrograma (μg) hlorofila *a* ima na površini od 1 cm^2 .

3.6. Određivanje sadržaja vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu

Metoda određivanja sadržaja vode (SV), količine organske (SO) i neorganske materije (SN) u biofilmu daje uvid u količinu ovih parametara u biofilmu po jedinici površine supstrata, a takođe i u njihov količinski odnos u svakom uzorku biofilma. Nakon donošenja uzoraka u laboratoriju, veoma je bitno odmah izmeriti svežu težinu biofilma (Ts), u cilju dobijanja podatka o težini biofilma koja uključuje sva tri ispitivana parametra. Sledeća faza uključuje sušenje uzoraka biofilma u sušnici na 105 °C, u trajanju od 24 h. Ovim postupkom eliminiše se sva voda i vлага iz uzorka i nakon ponovnog merenja biofilma na analitičkoj vagi, dobija se rezultat koji predstavlja težinu uzorka (T_{105}) u kome nema vode i u kome se sada nalaze samo organska i neorganska materija. Nakon toga, biofilm se “spaljuje” u pećnici na 550 °C u trajanju od 3 h, čime se eliminiše sva organska materija. Uzorci se ponovo mere, pri čemu krajnja težina uzorka (T_{550}) predstavlja samo preostalu neorgansku komponentu biofilma.

3.6.1. Određivanje sadržaja vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu po jedinici površine

Na osnovu podataka koji su dobijeni merenjem svežeg, osušenog i spaljenog biofilma, određuje se sadržaj vode, organske i neorganske materije po jedinici površine stenovitog supstrata u istraživanim pećinama. Vrednosti ovih parametara izražavaju se u miligramima po centimetru kvadratnom (mg/cm^2). Način određivanja ovih parametara po jedinici površine, prikazan je sledećim formulama:

Sadržaj vode u biofilmu:

$$\text{SV/ cm}^2 = (\text{Ts} - \text{T}_{105})/3,14 \text{ (ili } 7,06 \text{ cm}^2)$$

$(\text{Ts} - \text{T}_{105})$ – sadržaj vode u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

Deljenjem dobijenog rezultata sa $3,14$ ili $7,06 \text{ cm}^2$ dobijamo sadržaj vode u biofilmu po 1 cm^2 .

Sadržaj organske materije u biofilmu:

$$SO/ \text{cm}^2 = (T_{105} - T_{550})/3,14 \text{ (ili } 7,06 \text{ cm}^2\text{)}$$

$(T_{105} - T_{550})$ – sadržaj organske materije u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

Deljenjem dobijenog rezultata sa $3,14$ ili $7,06 \text{ cm}^2$ dobijamo sadržaj organske materije u biofilmu po 1 cm^2 .

Sadržaj neorganske materije u biofilmu:

$$SN/ \text{cm}^2 = T_{550}/3,14 \text{ (ili } 7,06 \text{ cm}^2\text{)}$$

T_{550} – sadržaj neorganske materije u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

Deljenjem dobijenog rezultata sa $3,14$ ili $7,06 \text{ cm}^2$ dobijamo sadržaj neorganske materije u biofilmu po 1 cm^2 .

3.6.2. Procentualni udio vode, količine organske i neorganske materije u biofilmu

Na osnovu podataka koji su dobijeni merenjem svežeg, osušenog i spaljenog biofilma, takođe je određen i procentualni udio vode, organske i neorganske materije u svakom uzorku biofilma. Ovaj podatak daje informaciju o odnosu ovih parametara u uzorcima biofilma, odnosno informaciju o tome koja komponenta je dominantna u svakom uzorku biofilma. Način određivanja procentualnog udela ovih parametara prikazan je na sledećim formulama:

Procentualni udio vode u uzorku biofilma:

$$SV(\%) = ((T_s - T_{105}) * 100) / T_s$$

$(T_s - T_{105})$ – sadržaj vode u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$
 T_s – težina svežeg uzorka biofilma sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

Sadržaj organske materije u biofilmu:

$$SO(\%) = ((T_{105} - T_{550}) * 100) / T_s$$

$(T_{105} - T_{550})$ – sadržaj organske materije u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

T_s – težina svežeg uzorka biofilma sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

Sadržaj neorganske materije u biofilmu:

$$SN(\%) = (T_{550} * 100) / T_s$$

T_{550} – sadržaj neorganske materije u biofilmu sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

T_s – težina svežeg uzorka biofilma sa površine od $3,14 \text{ cm}^2$ ili $7,06 \text{ cm}^2$

3.7. Kvalitativna analiza cijanobakterija i algi

Kvalitativnom analizom cijanobakterija i algi dobijamo uvid u sastav zajednice fototrofnih mikroorganizama u epilitskim i endolitskim uzorcima sa istraživanih pećina sa područja Srbije. Kvalitativna analiza se zasniva na mikroskopiranju pripremljenih preparata postojećih uzoraka i identifikaciji svih prisutnih taksona cijanobakterija i algi. Mikroskopski preparati koji se pripremaju mogu biti privremeni, polutrajni i/ili trajni. Za posmatranje svežih uzoraka biofilma i uzoraka endolitskih cijanobakterija i algi, pravljeni su privremeni i polu-trajni mikroskopski preparati, dok su za analizu silikatnih algi pripremljeni trajni mikroskopski preparati. Da bi se napravio privremeni i/ili polutrajni mikroskopski preparati endolitskih algi, ovi uzorci su prvobitno morali biti obrađeni na poseban način opisan u tekstu spod, kako bi se endolitske alge oslobostile iz stenovitog supstrata.

Svi pripremljeni preparati posmatrani su koristeći mikroskop Carl Zeiss AxioImager M.1. Adhezivna traka, privremeni polu-trajni i trajni preparati posmatrani su na različitim uvećanjima, što je pre svega zavisilo od veličine taksona koji je potrebno zabeležiti: 200x, 400x, 630x, 756x i 1008x. Za trajne preparate silikatnih algi, korišćena su veća uvećanja (1000x, 1600x i 2500x) uz obavezno korišćenje imerzionog ulja Zeiss ImmersolTM 518 F. DIC optika (Differential Interference Contrast), koja daje trodimenzionalni efekat na mikrografijama, pre svega je korišćena za silikatne alge, ali i za pojedine taksone ostalih predstavnika iz biofilma. Svi preparati su celi detaljno pregledani, po transektima. Zabeleženi taksoni su fotografisani pomoću digitalne kamere AxioCam MRc5, koja je spojena sa mikroskopom. Na osnovu mikrografija zabeleženih taksona, pomoću kompjuterskog softvera AxioVision 4.8, određene su dimenzije taksona, kao i drugi dodatni parametri neophodni za ispravnu identifikaciju. Identifikacija zabeleženih taksona vršena je pomoću naučnih radova i standardne literature za identifikaciju: Krieger i Gerloff 1962; Prescott i sar. 1972; Starmach 1972; Ettl 1978, 1980; Růžička 1981; Huber-Pestalozzi i sar. 1983; Krammer i Lange-Bertalot 1986, 1988, 1991, 2004; Ettl i Gärtner 1988; Lenzenweger 1999, 2003; Krammer 1997, 2000, 2002, 2003; Reichardt 1999; Komárek i Anagnostidis 1998, 2005; Lange-Bertalot 2001; Rindi i Guiry 2004, Van de Vijver i sar. 2004; John i sar. 2003; Broady i Ingerfeld 2007; Taylor i sar. 2007; Mareš i sar. 2008; Komárek i sar. 2009, 2011; Levkov 2009; Khaybullina i sar. 2010; Kopálová i sar. 2012; Hofmann i sar. 2013; Komárek 2013, Mareš i sar. 2013; Falasco i sar. 2014; Komárek i sar. 2014, Lowe i sar. 2014; Strunecký i sar. 2014; Tofilovska i sar. 2014; Levkov i sar. 2016.

Identifikovani taksoni iz uzoraka biofilma odabranih pećina sa teritorije Srbije grupisani su u razdele: Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta. Sve mikrografije zabeleženih taksona cijanobakterija i algi iz endolitskih uzoraka i uzoraka biofilma odabranih pećina u Srbiji čuvaju se u fototeci Katedre za algologiju, lihenologiju i mikologiju Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu i obeležene su brojevima od 40 000 – 44 283 i 45 701 – 46 550.

3.7.1. Priprema mikroskopskih preparata – adhezivna traka

Metoda adhezivne trake je korišćena pre svega zbog detaljnije kvalitativne analize uzoraka biofilma iz odabranih pećina sa teritorije Srbije. Prednosti ove metode su te što ne zahteva nikakvu posebnu dodatnu pripremu kako bi se preparat mogao posmatrati koristeći svetlosni mikroskop. Potrebno je samo, odmah nakon dolaska u laboratoriju sa terena, između mikroskopske pločice i adhezivne trake staviti kap glicerina. Mikroskopska pločica sa adhezivnom trakom se nakon toga direktno posmatra koristeći svetlosni mikroskop. Ovakav preparat se dugo može čuvati.

3.7.2. Priprema mikroskopskih preparata – privremeni i polutrajni preparati sa glicerinom

Za posmatranje uzoraka biofilma i endolitskih algi, prvo su korišćeni privremeni mikroskopski preparati. Međutim, pošto je bilo potrebno da se preparati izvesno vreme čuvaju, napravljeni su polutrajni mikroskopski preparati koristeći glicerin. Pre samog postupka pravljenja ovog tipa mikroskopskih preparata, pripremljena su nekorišćena predmetna i pokrovna stakla, obeležena brojem uzorka. Postupak pravljenja preparata iz uzoraka biofilma je sledeći: sterilne plastične kesice u kojima se nalaze uzorci biofilma se otvaraju, pri čemu se sterilnom iglom odvajaju mali poduzorci biofilma, koji se transportuju na mikroskopsku pločicu. Bitno je da se poduzorci biofilma uzmu sa različitih delova uzorkovanog biofilma, kako bi kvalitativna analiza bila što detaljnija. Na delić biofilma koji je stavljen na predmetno staklo, stavi se jedna kap vode, kako bi se uzorak rehidrirao. Nakon 5-10 minuta rehidratacije, papirnim ubrusom se upije višak vode. Potom, na rehidrirani uzorak biofilma stavlja se kap glicerina. Pomoću sterilne iglice, biofilm se usitni, a zatim ravnomerno izmeša sa glicerinom, kako bi bio što homogeniji. Na to se stavlja pokrovno stakalce, koje se dobro pritisne. Višak glicerina sa uzorkom koji iscuri van pokrovnog stakalceta, očisti se vatrom koja je natopljena alkoholom. Zatim se pokrovno stakalce za predmetno staklo učvrsti lakom za nokte. Lak se prvo stavlja na uglove pokrovnog stakalceta, sačeka se da se osuši, a zatim se fiksiraju i sve ostale ivice. Posle sušenja laka, mikroskopski preparat je spremjan za mikroskopiranje. Na ovaj način su pripremani i preparati endolitskih algi nakon

njihovog oslobođanja iz stene. Mikroskopski preparati sa glicerinom su pravljeni u tri replike za svaki uzorak. Prvi replika je pravljena prema iznad opisanom postupku, a kod druge i treće replike, umesto kapi vode, stavljen je voden rasvor boje: metilen-plavo kod druge i gencijana-violet kod treće replike. Boje su kod nekih taksona bojile određene strukture, pa su ovi taksoni bili uočljiviji u biofilmu. Boja toluidin-plavo korišćena je za bojenje privremenih preparata uzoraka biofilma u kojima je opisan novi takson cijanobakterija - *Nephrococcus sericus* (S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek). Pravljenje tri replike polutrajnih mikroskopskih preparata je uz adhezivnu traku i privremeni preparat omogućilo veoma detaljnu kvalitativnu analizu biofilma.

3.7.3. Priprema uzorka i pravljenje trajnih preparata silikatnih algi

Jedan od važnih taksonomskih karaktera silikatnih algi, pored veličine i oblika, jeste morfologija njihovog ćelijskog zida. Na mikroskopskim preparatima koji se pripremaju koristeći sveži uzorak biofilma, same silikatne alge su veoma teško uočljive zbog prisustva drugog organskog i neorganskog materijala, a morfologija ćelijskog zida i njegove strukture obično nisu vidljive. Kako bi se specifične pojedinosti i detalji morfologije silikatnih algi mogle uočiti, uzorci silikatih algi se posebno pripremaju u laboratoriji. Ovim postupkom se uklanja sva organska materija iz uzorka korišćenjem jakog oksidacionog sredstva, kao što je, prema Taylor i saradnicima (2005), hlorovodonična kiselina (HCl) zajedno sa kalijum-permanganatom ($KMnO_4$).

Pripremu uzorka za izradu trajnih preparata silikatnih algi neophodno je pažljivo izvoditi u digestoru koristeći zaštitnu opremu (mantil, rukavice i zaštitne naočare). Sterilnom metalnom iglom ili kašičicom, deo svežeg uzorka biofilma se odvaja i ubacuje u obeležene epruvete zapremine 100 ml. Metalni pribor se steriliše pre svake sledeće upotrebe, kako ne bi došlo do kontaminacije algama iz prethodnog uzorka. U svaku epruvetu sa uzorkom dodaje se po 1 ml $KMnO_4$. Nakon što epruvete odstoje 24 h, dodaje se 37% HCl, što izaziva burnu reakciju. Epruvete se zatim zajedno sa stalkom zagrevaju u vodenom kupatilu 45 minuta, sve dok sadržaje epruvete ne dobije žućkastu boju. Nakon hlađenja epruveta, one se dopunjaju vodom i centrifugiraju 7 minuta na 2500 obrtaja, posle čega se odliva supernatant. Faza dodavanja vode, centrifugiranja i odlivanja supernatanta se ponavlja nekoliko puta, sve dok krajnja pH

uzorka ne dostigne vrednost 6. Ovako pripremljeni uzorci, spremni su za izradu trajnih preparata silikatnih algi. Kako bi se uzorci čuvali duže vreme, talog iz svake epruvete se Pasterovom pipetom prebacuje u adekvatno obeležene ependorfice i uz dodatak jedne ili dve kapi glicerina, što sprečava rast mikroorganizama i isparavanje. Uzorci se deponuju se u mokru zbirku Katedre za algologiju, lihenologiju i mikologiju Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u odeljak gde se čuva material silikatnih algi.

Nakon pravilne pripreme uzorka, prave se trajni preparati silikatnih algi. Prvo se pripremaju pokrovna stakalca i predmetna stakla obeležena brojem uzorka. Za svaki uzorak, dva pokrovna stakalca se postavljaju na metalni stočić, ispod koga se nalazi špiritusna lampa. Na pokrovna stakalca ravnomerno se nanosi kap ili dve nataloženog materijala iz pripremljenog uzorka koristeći čistu Pasterovu pipetu. Kako bi se ubrzalo isparavanje vode sa pokrovnih stakalaca, pali se špiritusna lampa, nakon čega se stakalca zagrevaju u kratkim i brzim intervalima. Nakon što voda ispari, na pokrovnim stakalcima ostaju bele naslage koje potiču od silikatnih algi. Povremeno se na svetlosnom mikroskopu proverava da li je gustina algi na pokrovnim stakalcima zadovoljavajuća (pokrovno stakalce koje se posmatra treba da bude postavljeno tako da bele naslage budu sa gornje strane). Prema standardu SRPS EN 13946:2015 gustina valvi u jednom vidnom polju na uvećanju od 400x treba da bude oko 30. Nakon postizanja željene gustine valvi, na metalnom stočiću zagreva se predmetno staklo, a zatim se na njega, na dve tačke, staklenim štapićem nanosi refraktivna smola Naphrax®. Preko smole se stavljuju pokrovna stakalca pincetom, tako da bele naslage budu okrenute ka smoli. Sve se zajedno ponovo zagreva na metalnom stočiću, kako bi se smola dodatno otopila i ravnomerno rasporedila. Preparat skidamo sa metalnog stočića kada smola počne da ključa i blago pritiskamo po površini oba pokrovna stakalceta dok se ne istisnu mehurići vazduha i višak smole. Potrebno je oko jedne do dve nedelje da se smola potpuno osuši i stegne, nekon čega se višak smole oko svakog pokrovnog stakalceta sastruže skalpelom. Ovakvi trajni preparati silikatnih algi mogu se dugo čuvati i skladište se u kutije za mikroskopske preparate u zbirci preparata Katedre za algologiju, lihenologiju i mikologiju Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (Predojević 2017).

3.8. Izolovanje endolitskih algi iz stenovitog supstrata

Endolitski rast kod uzoraka endolitskih cijanobakterija i algi bio je primetan na površini svake stene sa gornje strane, gde je supstrat na dodir bio grub i hrapav. S obzirom na to da se zajednica endolitskih cijanobakterija i algi razvija u unutrašnjosti stenovitog supstrata, bila je potrebna određena metodologija kojom bi se ovi taksoni cijanobakterija i algi “izvukli” i odvojili od stenskog matriksa. U ove svrhe, korišćena je metoda prema Matthes-Sears i saradnicima (1999), pri čemu je ceo postupak rađen u digestoru koristeći zaštitnu opremu (mantil, rukavice i naočare). Uzorci stena na kojima je bio prisutan endolitski rast, prvo su dobro oprani običnom vodom, a zatim isprani u destilovanoj vodi, nakon čega su ostavljeni na sobnoj temperaturi da se dobro osuše. Kako bi bili sigurni da ćemo iz ovih uzoraka izolovati samo endolitske alge, površinski sloj svake stene je istupljan koristeći običnu turpiju (za nokte). Napravljen je rastvor hlorovodonične kiseline od 10%, jer prema autorima metode ova koncentracija kiseline daje najbolje rezultate. Oko 100 ml rastvora sipano je u čaše zapremine od 250 ml koje su obeležene brojem uzorka. Svaki uzorak endolitskih algi stavljen je u posebnu čašu tako da je ona strana, na kojoj je bio primetan endolitski rast, bila uronjena u rastvor hlorovodonične kiseline. Odmah nakon spuštanja uzoraka u kiselinu, usledila je veoma burna reakcija kiseline sa stenom. Reakcija je bila trenutna, ali kako bi bili sigurni da se stenski matriks u potpunstvu rastvorio, uzorci su u kiselini ostavljeni 24 h. Za razliku od metode koju su opisali Matthes-Sears i saradnici (1999), korišćen je samo jedan tretman sa HCl, jer drugi tretman nije bio potreban. Nakon 24 h, sav organski materijal koji je oslobođen iz stene, bio je istaložen na dnu čaše. Rastvor kiseline je, što je više bilo moguće, pažljivo izvučen Pasterovom pipetom, kako se talog na dnu čaše ne bi poremetio. Zatim je u čašu dodato 100 ml destilovane vode, kako bi se uzorak isprao od kiseline. Postupak je ponovljen još jednom nakon 24 h. Na kraju, svaki uzorak je prebačen u sterilne plastične bočice zapremine od 100 ml i fiksiran formaldehidom do konačne koncentracije rastvora od 4%. Za ispiranje uzoraka destilvanom vodom, izbegavano je korišćenje centrifuge, kako se dodatno ne bi oštetile ćelije cijanobakterija i algi koje su već tretirane kiselinom.

3.9. Kvantitativna analiza cijanobakterija i algi iz odabranih uzoraka biofilma

Kvantitativna analiza cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma pre svega omogućava precizno određivanje brojnosti jedinki i ćelija u određenom uzorku, pri čemu se dobija informacija o tome koji taksoni dominiraju, a koji ne, kao i podatak o odnosu samih taksona u uzorku. Pored određivanja brojnosti (abundance) kao parametra, moguće je odrediti i biomasu svih taksona u uzorku. Kvantitativna analiza rađena je samo na odabranim uzorcima biofilma (uzorci biofilma iz Vernjikice i Degurićke pećine) kako bi se stekao utisak o tome da li je ovakva analiza moguća, pogodna i od značaja za uzorke aerofitskih algi.

3.9.1. Određivanje brojnosti (abundance) cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma

S obzirom da ne postoje propisane adekvatne metode koje bi se primenile za određivanje brojnosti aerofitskih algi u uzorcima biofilma, brojnost je određena na osnovu posebno pripremljenih polutrajnih preparata. Metoda po Utermöhl-u (1958), koja se inače koristi za procenu brojnosti taksona iz uzorka fitoplanktona, se nije pokazala uspešnom u kvantitativnoj analizi cijanobakterija i algi iz uzorka biofilma.

Za određivanje brojnosti cijanobakterija i algi u uzorcima, napravljeni su polutrajni preparati sa glicerinom za koje su korišćeni uzorci biofilma poznate mase. Prepravljenja mikroskopskog preparata, svaki uzorak biofilma je prvo bio osušen na 105 °C u trajanju od 1 minut. Sušenje je omogućilo dobru homogenizaciju biofilma koja je bila neophodna kako bi bili sigurni da će se biofilm ravnomerno rasporediti na predmetnom staklu. Na analitičkoj vagi odmereno je 0,001 g suvog biofilma i ta količina je preneta na obeleženo predmetno staklo. Homogenizovani biofilm se na predmetnom staklu dobro izmeša sa glicerinom uz pomoć sterilne igle, pa se tek onda na sve ovo stavlja pokrovno stakalce. Brojanje cijanobakterija i algi je obavljeno u odabranim vidnim poljima i transekta pri uveličanjima od 400x i 630x. Na svakom preparatu brojano je između 400-500 jedinki sa živim sadržajem ćelija, pri čemu bi, u zavisnosti od uzorka bilo pređeno ili deo transekta, ili čak i po više transekata. Nakon brojanja, preračunato

je koliko ćelija i individua cijanobakterija i algi ima na celoj pločici, odnosno u 0,001 g biofilma.

3.9.2. Određivanje biomase cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma

Prema iznad opisanom postupku, dobija se informacija o brojnosti cijanobakterija i algi u svakom uzorku biofilma. Ukoliko se u obzir uzmu i podaci o dimenzijama svakog taksona, moguće je izračunati biomasu, koja je pored hlorofila *a*, jedan od načina procene primarne produkcije. Računanje biomase zasniva se na korišćenju geometrijskih aproksimacija i standardnih matematičkih formula (Hillebrand i sar. 1999; Sun i Liu 2003). Za određivanje biomase, potrebno je prethodno izračunati zapreminu ćelije na osnovu oblika i dimenzija. Ćelije mogu imati oblik jednostavnih geometrijskih tela (lopta, valjak, kvadar, ellipsoid), ali i oblik složenih geometrijskih tela koja su izgrađena od više jednostavnih oblika. Nakon što se svakom taksonu prvo dodeli određeno geometrijsko telo, mere se potrebne dimenzije uzimajući u obzir oko 20 jedinki iz istog uzorka, a zatim se računaju prosečne vrednosti. Podaci o dimenzijama se koriste u matematičkim formulama, na osnovu čega se dobija informacija o biomasi za pojedinačne ćelije svakog taksona. Ovaj parametar se koristi za izračunavanje ukupne biomase cijanobakterija i algi u uzorku biofilma:

$$V_{\text{total}} = \sum (N \times V)$$

gde je:

- V_{total} - ukupna biomasa cijanobakterija i algi u uzorku biofilma ($\mu\text{m}^3/\text{mg}$);
- N - broj ćelija određenog taksona u 1 mg (0,001 g) uzorka biofilma;
- V - prosečna zapremina ćelije određenog taksona ($\mu\text{m}^3/\text{mg}$).

Kao što se može primetiti, izračunavanjem ukupne biomase dobija se vrednost izražena u $\mu\text{m}^3/\text{mg}$ (kod fitoplanktona $\mu\text{m}^3/\text{l}$). Po pravilu, biomasa fitoplanktona izražava se u $\mu\text{g}/\text{l}$, pa je, kako bi za konačnu biomasu dobili jedinice $\mu\text{g}/\text{l}$, potrebno preračunavanje: $\mu\text{m}^3/\text{l}=10^{-6}\mu\text{g}/\text{l}$. Ovaj princip korišćen je i za krajnju biomasu cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma, pa je konačna biomasa izražena u $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Naravno, kao i kod računanja biomase fitoplanktona, prepostavljamo da ćelije imaju gustinu čija je vrednost 1.

3.10. Skening elektronska mikroskopija (SEM) i energetsko disperzivna spektroskopija (EDS)

Skening elektronska mikroskopija je poznata nedestruktivna metoda koja koristi snop elektrona za skeniranje površine preparata. Ovom mikroskopskom tehnikom moguće je snimati uzorak na veoma velikim uvećanjima pri visokoj rezoluciji pri čemu se uočavaju veoma sitni i fini detalji. Uzorci koji se posmatraju skening elektron mikroskopom treba da budu suvi i provodni, pa se pripremaju tako što se fiksiraju, dehidriraju i presvlače tankim slojem elektroprovodnog materijala. Skening elektron mikroskop je pogodan za snimanje same površine uzorka, morfologije uzorka - odnosno teksture, veličine i oblika čestica, orijentacije, rasporeda i njihovog načina povezivanja. Takođe, može se vršiti i hemijska karakterizacija uzorka, odnosno elementarna analiza (koji elementi su prisutni u uzorku kao i njihova abundanca), analitičkom procedurom koja se naziva energetsko disperzivna spektroskopija (EDS) (Brošura SEM LAB 2011).

Zbog svih ovih pogodnosti, skening elektronski mikroskop je korišćen kao dodatna metoda za analizu odabralih uzoraka biofilma (i endolitskih cijanobakterija i algi), pre svega zbog realnog prikaza površine biofilma i načina na koji su njegovi konstituenti povezani i raspoređeni. Korišćen je i energetsko disperzivni spektrometar (EDS) za određivanje hemijskog sastava uzorka biofilma. Odabrani uzorci silikatnih algi su takođe snimani na SEM-u, kako bi se videla detaljna morfologija ćelijskog zida i potvrdila identifikacija pojedinih aerofitskih taksona. Uzorci biofilma iz Božanine pećine snimani su na skening elektronskom mikroskopu TESCAN Mira3 XMU na Katedri za neorgansku hemijsku tehnologiju na Tehnološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu prema Hernández-Mariné i saradnicima (2004). Za ostale odabране uzorke rađene su SEM-EDS analize na skening elektronskom mikroskopu JEOL JSM-6610LV opremljenim sa energetsko-disperzivnim spektrometrom X-Max EDS na Rudarsko - geološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Pre snimanja uzorci su pripremljeni na standardni način i presvućeni zlatom koristeći uređaj BALTEC-SCD-005. Za snimanje

slikatnih algi, korišćen je High Resolution Field Emission skening electron mikroskop (Zeiss ULTRA Plus) sa mogućnošću EDS analiza (Oxford Instruments Inca with XMax 80 detector) u Prirodnjačkom muzeju u Londonu.

3.11. Konfokalna laser skenirajuća mikroskopijska mikroskopija (CLSM)

CLSM predstavlja specijalizovani tip svetlosnog mikroskopa koji koristi laser za skeniranje uzorka kako bi se dobila finalna slika visoke optičke rezolucije, naglašenih kontrasta malih struktura i bez zamućenja. Konfokalni mikroskop je korišćen samo za snimanje jednog uzorka iz Božanine pećine u kome je otkrivena nova vrsta cijanobakterije za nauku. Uzorak nije zahtevao nikakvu specijalnu pripremu pre snimanja na konfokalnom mikroskopu, samo ga je bilo potrebno obojiti, za što je korišćena boja propidijum jodid (1:500). Mali deo uzorka stavljen je na predmetno staklo, a preko njega je stavljen par kapi boje. Kako bi se uzorak pravilno obojio, boja je ostavljena da odstoji 10 minuta, nakon čega je isprana destilovanom vodom. Uzorci su snimani na konfokalnom laser skenirajućem mikroskopu Leica TCS SP5 II Basic Broadband Microscope proizvođača Leica Microsystems Germany (laser 543 nm, uvećanje od 63x), koji se nalazi na Katedri za biologiju ćelija i tkiva na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom prof. dr Aleksandre Korać.

3.12. Međunarodni Kod Nomenklature za alge, gljive i biljke

Tokom obrade uzorka iz Božanine pećine, uočeno je prisustvo jednog taksona cijanobakterija koji je opisan kao nova vrsta za nauku. Kako bi se nova vrsta za nauku ispravno opisala, poštovana su pravila Međunarodnog Koda za Nomenklaturu za alge, gljive i biljke. Od održavanja Međunarodnog Botaničkog kongresa u Melburnu, Australija, tokom jula 2011. godine, na snagu stupa Melbourne Code (2011) koji nosi ime Međunarodni Kod Nomenklature, koji menja stari Vienna Code (2005) "Međunarodni Kod Botaničke Nomenklature". U Međunarodnom Kodu za Nomenklaturu opisana su načela, pravila i preporuke koji se tiču dodeljivanja imena novim vrstama algi, gljiva i biljaka. Za razliku od starog Koda, novi Kod 2011. godine doneo je neke izmene i pogodnosti. Ovim Kodom dozvoljena je elektronska publikacija

imena novih taksona, bez potrebe za skladištenjem papirnih kopija. Takođe, više nije obaveza opisati novu vrstu isključivo na latinskom jeziku, već je u te svrhe moguće koristiti i engleski jezik. Kod sadrži određene principe, načela, pravila i preporuke za opis novih vrsta kako biljaka i gljiva, tako i cijanobakterija i algi (Flann i sar. 2014; McNeill i sar. 2012; McNeill i Turland 2011).

3.13. Petrografska analiza stenovitog supstrata

Petrografska analiza uzorka stena rađena je na Rudarsko-geološkom fakultetu, od strane prof. dr Kristine Šarić. Analiza je vršena na polarizacionom mikroskopu za propuštenu svetlost tipa Leica DMLSP, koji je povezan sa digitalnom kamerom Leica DC 300. Za mikroskopska ispitivanja napravljeni su petrografski preparati prema standardnoj proceduri uranjanja pločice stene debljine oko 0,25 mm u kanada-balsam i lepljenjem pokrovног стакла.

3.14. Statistička obrada podataka

Najveći broj rezultata u ovoj studiji prikazan je tabelarno ili grafički, pri čemu je korišćen program Microsoft Excel sa dodatkom XLSTAT. Najčešće korišćene opcije ovog programskog paketa su opcija izračunavanja srednje vrednosti i opcija kojom se prikazuje stepen korelacije dve promenljive veličine preko Pearson-ovog koeficijenta korelacije. Ovom opcijom dobijamo podatak o stepenu korelacije između dve promenljive veličine koji ima vrednosti od 0 do 1, podatak da li je dobijena vrednost korelacije statistički značajna, kao i koeficijent determinacije.

Softver za analizu ekoloških podataka CANOCO, verzija 5.0 (Ter Braak i Šmilauer 2012) korišćen je kako bi se prikazao odnos zabeleženih taksona (grupa) fototrofnih mikroorganizama i različitih ekoloških parametara. Od ponuđenih multivariantnih analiza, korišćena je analiza glavnih komponenti, PCA (eng. Principal Component Analysis).

Većina PCA analiza bazirala se analizi odnosa zabeleženih razdela i različitih ekoloških parametara. Podaci koji su uneti u program obuhvatili su prisustvo/odsustvo vrsta, nakon čega su u program formirane odgovarajuće grupe (razdeli) sa kojima je

dalje rađeno. Ekološki parametri su uključili veliki broj podataka, pri čemu je znatna pažnja usmerena na veliki broj opisnih karakteristika, koje su u PCA uvek korištene kao suplementarne promenljive veličine.

Prva PCA analiza prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih varijabli koje se odnose na geostruktturnu jedinicu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije i Karpato-balkanida. Cilj je bio sagledati potencijalnu razliku između ove dve geostruktturne jedinice koja bi se odrazila kroz dominaciju određenog razdela fototrofnih mikroorganizama u nekoj od njih.

U drugoj PCA analizi cilj je bio prikazati odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih varijabli koje se odnose na pet tipova krečnjaka koji su utvrđeni petrografskom analizom.

U sledećoj PCA analizi pažnja je usmerena na odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih karakteristika biofilma. Za potrebe ove analize svi biofilmovi koji su uzorkovani kategorisani su na dva načina uzimajući u obzir dva karaktera: debljinu biofilma (stepen razvijenosti) i vlažnost (odnosno suvoću). Uzimajući u obzir stepen razvijenosti, biofilmovima su dodeljene sledeće opisne veličine: biofilmovi koji su izrazito razvijeni, odnosno voluminozni (D), biofilmovi koji su tanki (T) i oni koji su po karakteristikama negde između ova dva parametra (S). Na osnovu toga da li su pretežno suvi ili ne, dodeljene su im sledeće kategorije: suv biofilm, želatinozan biofilm, biofilm koji je po karakteristikama nešto između ova dva i vlažan biofilm, što se odnosi na biofilm preko koga preliva voda.

Takođe, od značaja je bilo pomoću PCA prikazati i odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih varijabli koje se odnose na mesto uzorkovanja (ulaz i unutrašnjost pećine) kao i položaj tačaka uzorkovanja (vertikalna, horizontalna i površina, plafon pećine).

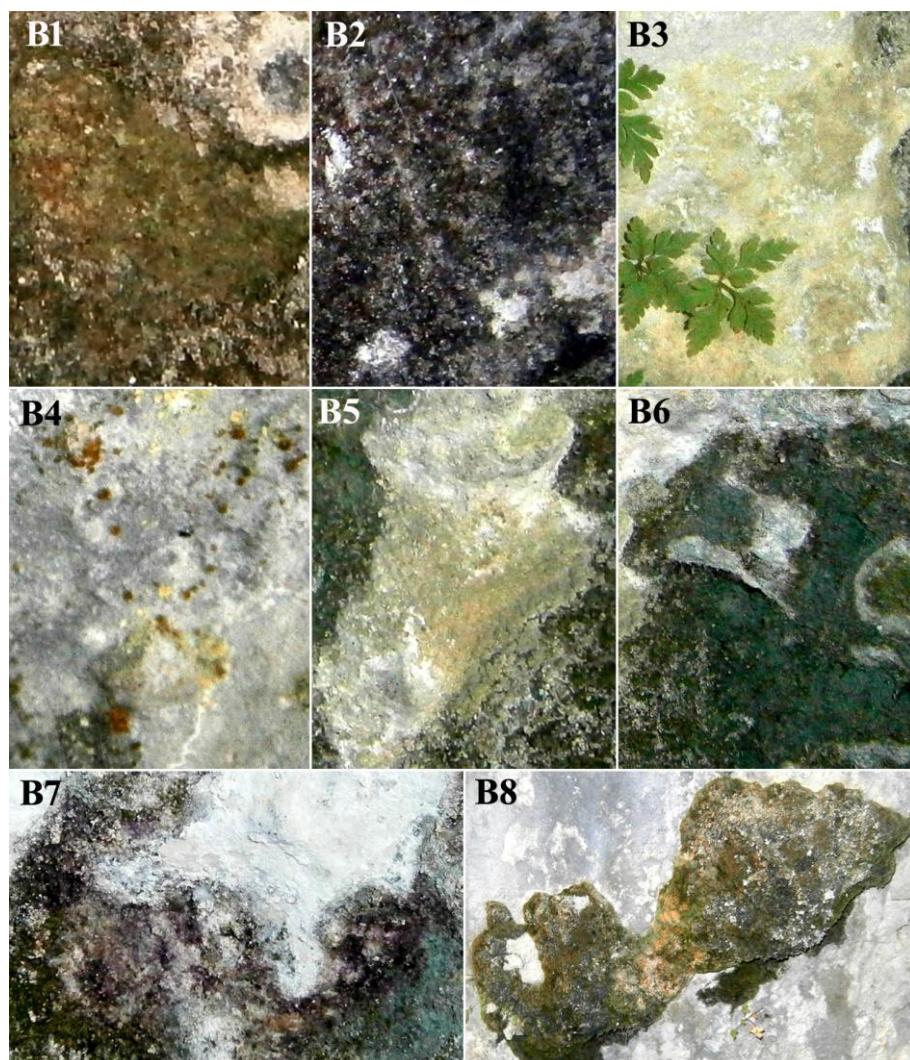
Pomoću PCA se takođe nastojao sagledati odnos merenih ekoloških parametara (temperature, relativne vlažnosti vazduha i intenziteta svetlosti), merenih parametara biofilma (sadržaj vode, organske i neorganske materije) i sledećih promenljivih veličina: hlorofila *a* i opisnih varijabli koje se odnose na mesto uzorkovanja, položaj tačaka uzorkovanja i razvijenost biofilma.

4. REZULTATI

4.1. Pregled tačaka uzorkovanja

Biofilm je sakupljen iz 15 pećina, sa ukupno 81 tačke (10 tačaka uzorkovanja koje pripadaju pećinama Samar i Jezava je uzorkovano sezonski). Slike svih tačaka uzorkovanja po pećinama date su u tekstu ispod.

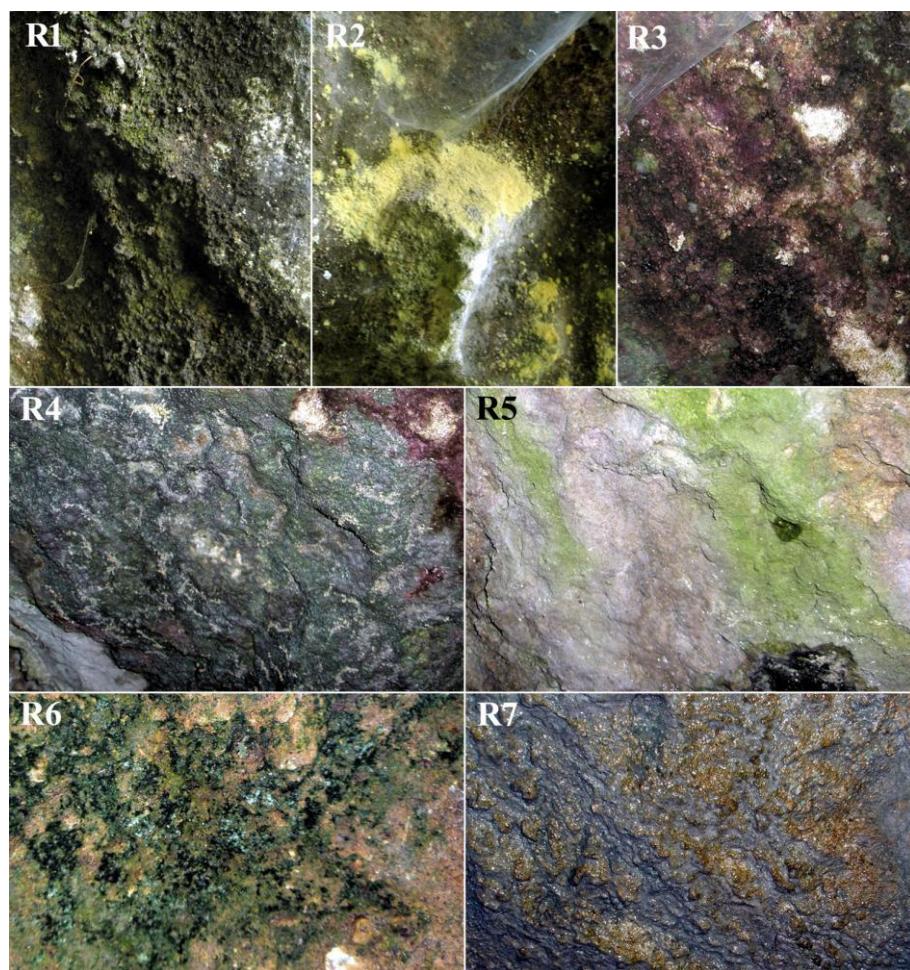
U Božaninoj pećini uzorkovanje je vršeno na osam različitih tačaka (B1 – B8) koje su se razlikovale pre svega po boji biofilma (Slika 20).



Slika 20. Fotografije tačaka uzorkovanja u Božaninoj pećini.

Boja biofilma u Božaninoj pećini je varirala od žute na mestima uzorkovanja B3 i B5, preko narandžaste na tački B4, tamnoljubičaste na B7, do zelene i tamne na ostalim tačkama uzorkovanja. Žuti biofilm je na većoj površini stene bio razvijen u tankom sloju. Narandžasti biofilm je imao izgled narandžastih tačaka, odnosno jastučića, suvih na dodir, dok je ljubičasti biofilm bio želatinozan. Biofilm na ostalim mestima uzorkovanja je bio dobro razvijen, posebno na tački B8, gde je primećena značajna deterioracija supstrata (prilikom uzorkovanja biofilma otpadao je i deo supstrata).

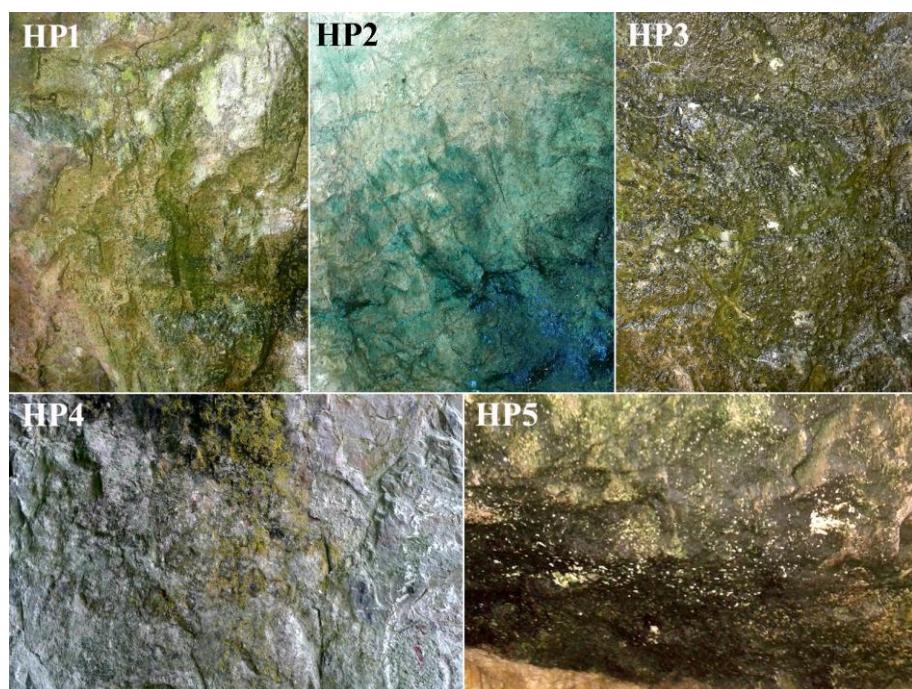
Sedam tačaka uzorkovanja (R1 – R7) izabrano je u Ribničkoj pećini (Slika 21). Žuti biofilm na mestu uzorkovanja R2 i svetlozeleni biofilm na tački R5 bili su praškasti, suvi i manje razvijeni od biofilmova na ostalim tačkama.



Slika 21. Fotografije tačaka uzorkovanja u Ribničkoj pećini.

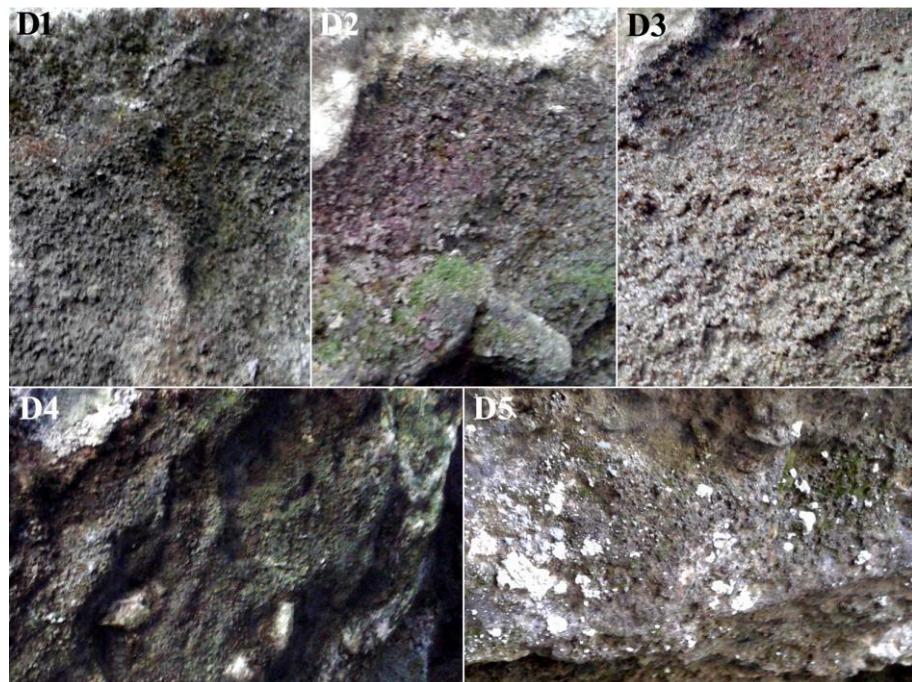
Na mestima uzorkovanja R1, R3 i R4 bio je prisutan razvijeni biofilm tamnozelene, ljubičaste i zelene boje, respektivno. Sa tačaka R6 i R7 uzorkovan je biofilm zelene, odnosno želatinozan biofilm braon boje. Svi biofilmovi su uzorkovani sa vertikalne površine, odnosno sa zida pećine, osim biofilma na tački R6, koji je uzet sa zemlje.

U Hadži Prodanovoj pećini uzorkovano je ukupno sa pet mesta (HP1 – HP5). Na zidovima ulaza u Hadži Prodanovu pećinu uglavnom je bio prisutan biofilm zelene boje različitih nijansi, kao što se može videti na Slici 22. Pored zelenog biofilma, uzorkovan je i nešto suvlji zelenožuti biofilm (tačka HP4) i biofilm crne boje na mestu uzorkovanja broj HP5.



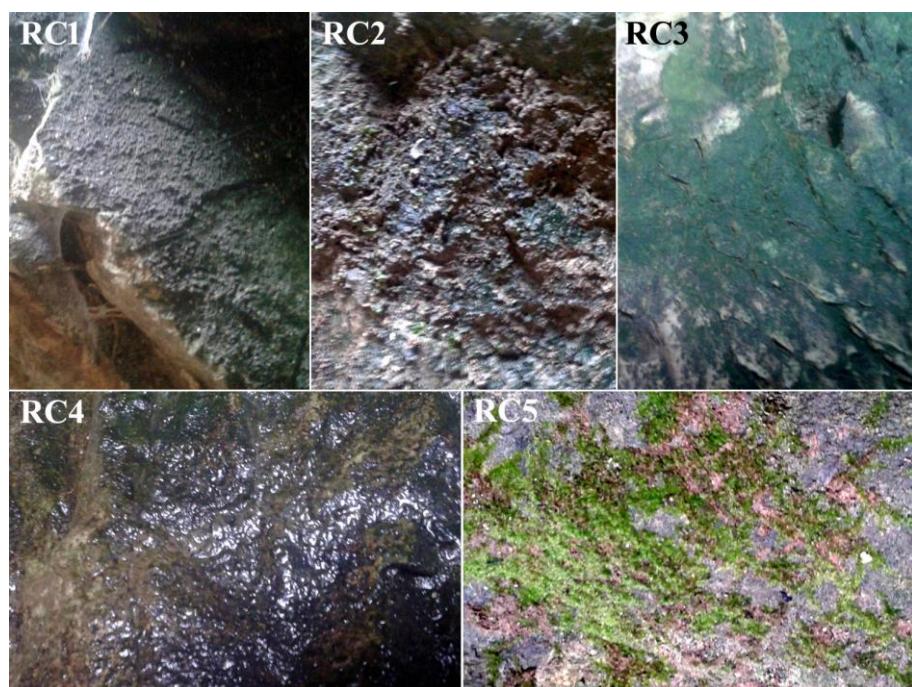
Slika 22. Fotografije tačaka uzorkovanja u Hadži Prodanovoj pećini.

Biofilm na odabranim mestima uzorkovanja (D1 – D5) u Degurićkoj pećini (Slika 23) bio je tamne boje (na tački D1 – sa primesama crne boje, na tački D2 – sa primesama ljubičaste boje, na tački D3 – sa primesama braon i tamnozelene boje na mestima uzorkovanja D4 i D5). Na prve tri tačke biofilm je bio jako dobro razvijen i želatinozan, isti delimično i na tački D4, dok je na mestu uzorkovanja D5 bio nešto suvlji.



Slika 23. Fotografije tačaka uzorkovanja u Degurićkoj pećini.

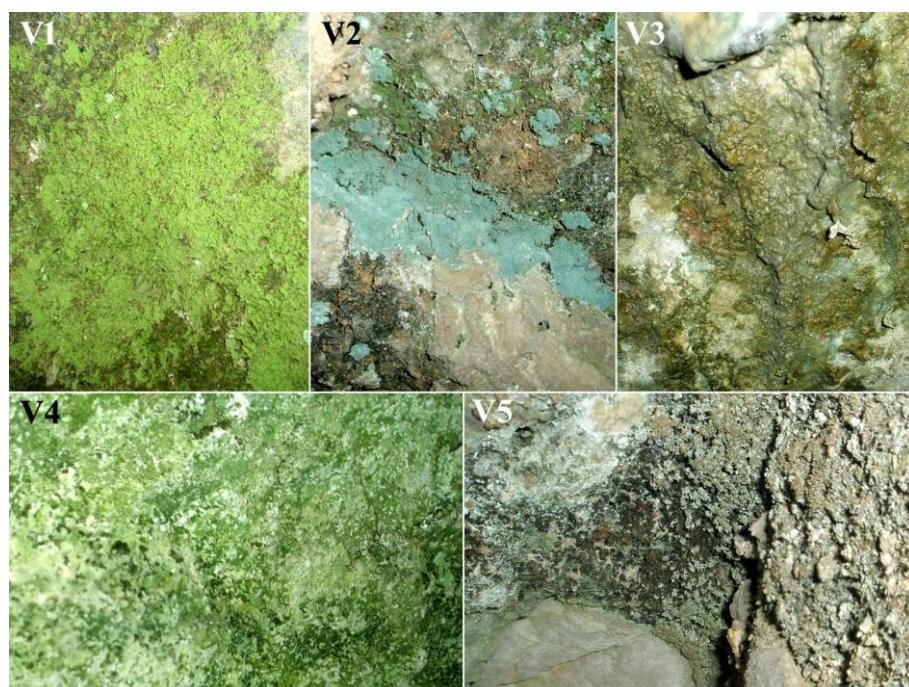
Na Slici 24, prikazane su fotografije tačaka uzorkovanja u Réanskoj pećini.



Slika 24. Fotografije tačaka uzorkovanja u Réanskoj pećini.

Svi uzorci (RC1 – RC5) u Rćanskoj pećini, osim biofilma na tački RC2, uzeti su sa vertikalne površine, odnosno stenovitog supstrata zida pećine. Tačka RC2 se nalazila na horizontalnoj površini, odnosno na nakupljenom mulju na steni koja se nalazila u središnjem delu ulaza. Boje biofilma su varirale od zelene na tački RC3, tamnozelene na tačkama RC1, RC2 i RC4 i svetlozelene na tački RC5, gde je bila prisutna i mahovina. Izuzetno vlažan biofilm preko koga preliva voda bio je zastupljen na mestu uzorkovanja RC4.

U pećini Vernjikica (Slika 25) je uzorkovano sa ukupno 5 tačaka (V1 – V5). Boja biofilma je varirala od svetlo zelene na tački V1, maslinastozelene i zelene na tačkama V3 i V4, plave na tački V2, do tamne (crne) na tački V5. Na većini tačaka uzorkovanja biofilm je bio dobro razvijen, ali je bio suv, što se naročito odnosi na tačku V2. Jedino je na tački V3 biofilm bio vlažan, zbog prisustva prokapnih voda.



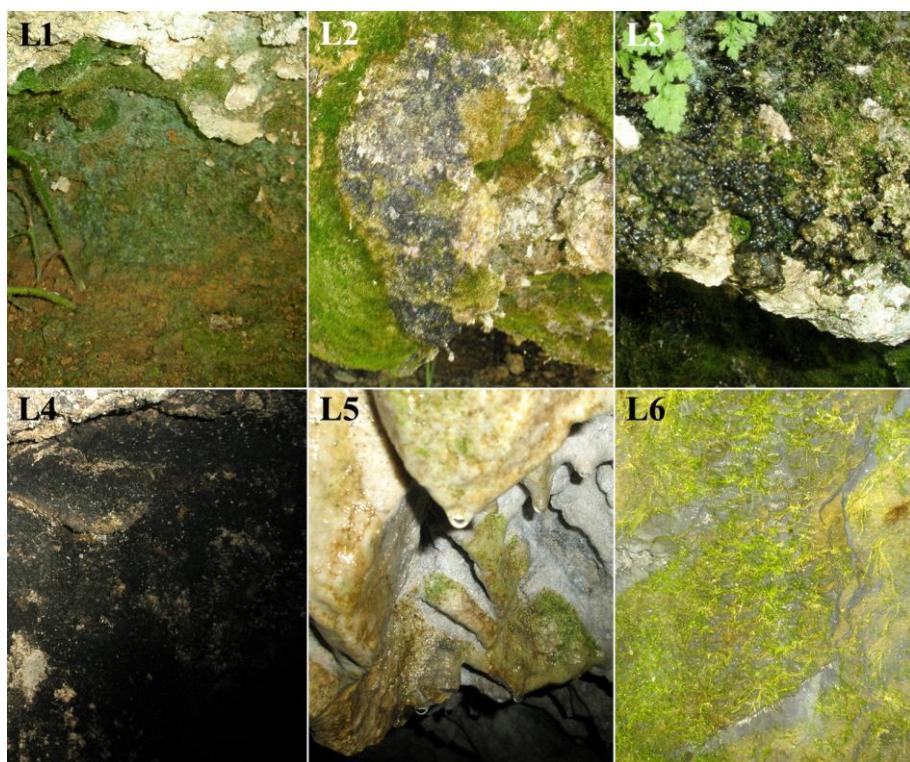
Slika 25. Fotografije tačaka uzorkovanja u pećini Vernjikica.

Samo tri uzorka biofilma crne i zelene boje uzeto je iz pećine kod Sove (SV1 – SV3). Kao što se primećuje na Slici 26, biofilm je izrazito suv na svim tačkama, osim na tački SV3, koju kvase prokapne vode.



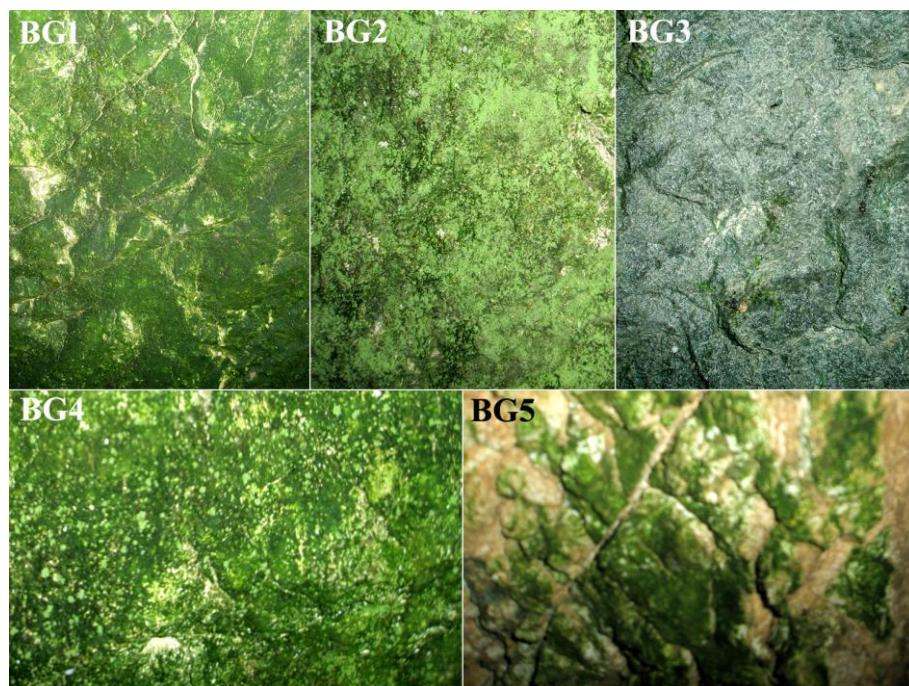
Slika 26. Fotografije tačaka uzorkovanja u pećini kod Sove.

U Lazarevoj pećini uzorkovano je na šest tačaka (L1 – L6) (Slika 27): tri mesta uzorkovanja izabrana su na ulazu u pećinu, a druga tri u unutrašnjosti pećine. Na tačkama uzorkovanja na ulaznom delu pećine bio je prisutan dobro razvijen biofilm, čija je boja varirala od zelene do tamne. U unutrašnjosti pećine, manje razvijeni biofilm crne i zelene boje je uzorkovan na mestima u neposrednoj blizini veštačkog osvetljenja.



Slika 27. Fotografije tačaka uzorkovanja u Lazarevoj pećini.

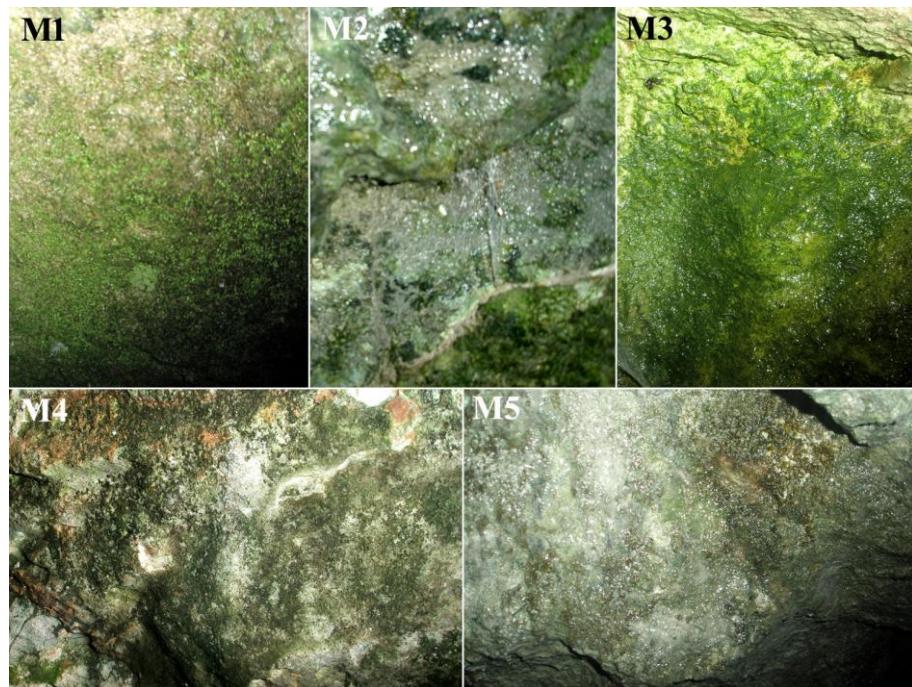
U Bogovinskoj pećini je uzorkovan biofilm sa pet tačaka (BG1 – BG5) (Slika 28). Skoro na svim mestima uzorkovanja biofilm je bio zelene boje, osim na tački BG3, gde je uzorkovan biofilm sive boje.



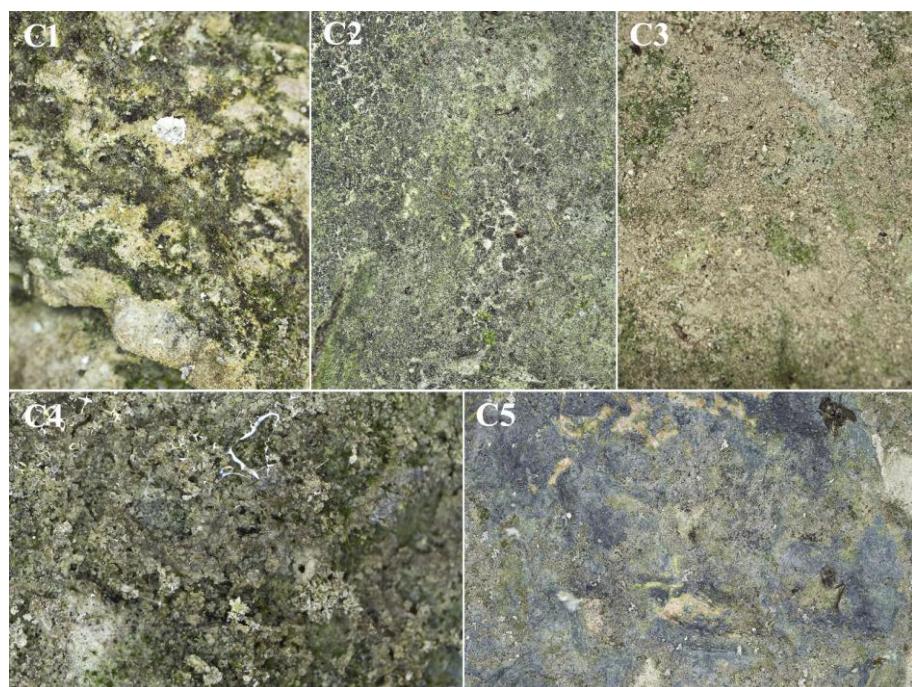
Slika 28. Fotografije tačaka uzorkovanja u Bogovinskoj pećini.

Kao i u Bogovinskoj pećini, i u Mandinoj pećini (M1 – M5, Slika 29) je na većini mesta uzorkovanja bio prisutan biofilm zelene boje, osim na tački M2 gde je bio razvijen biofilm sive boje. Izuzetak su mesta uzorkovanja broj M4 i M5, gde je biofilm nešto tamniji. Nijedan biofilm nije bio želatinozan.

Cerjansku pećinu (C1 – C5, Slika 30) je karakterisalo prisustvo biofilma uglavnom tamne boje (mesta uzorkovanja C1, C2 i C4). Na tački C3, uzorkovan je biofilm smeđelila boje, dok je na tački C5 bio prisutan biofilm mastiloplave boje, koji je u tankom sloju bio razvijen na, a delimično i u steni.

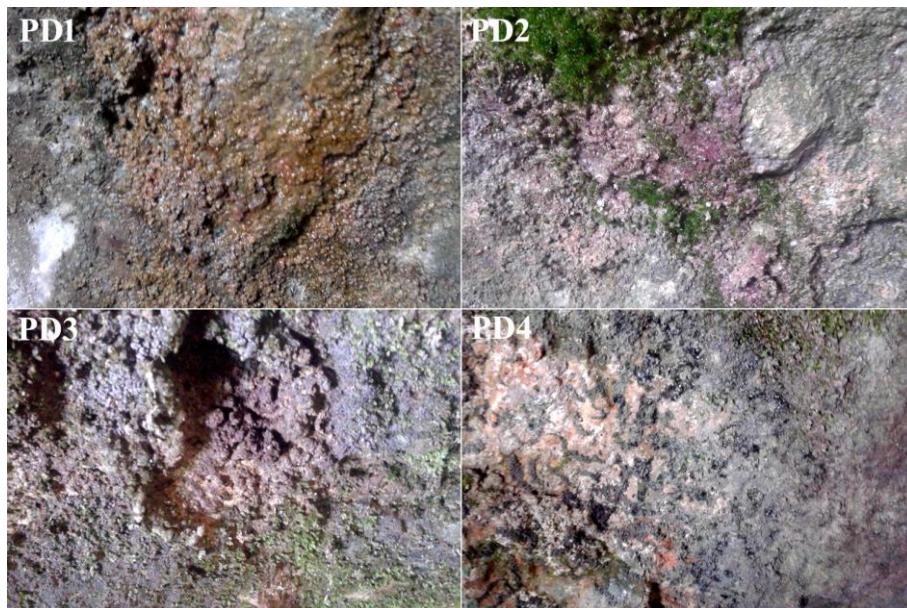


Slika 29. Fotografije tačaka uzorkovanja u Mandinoj pećini.

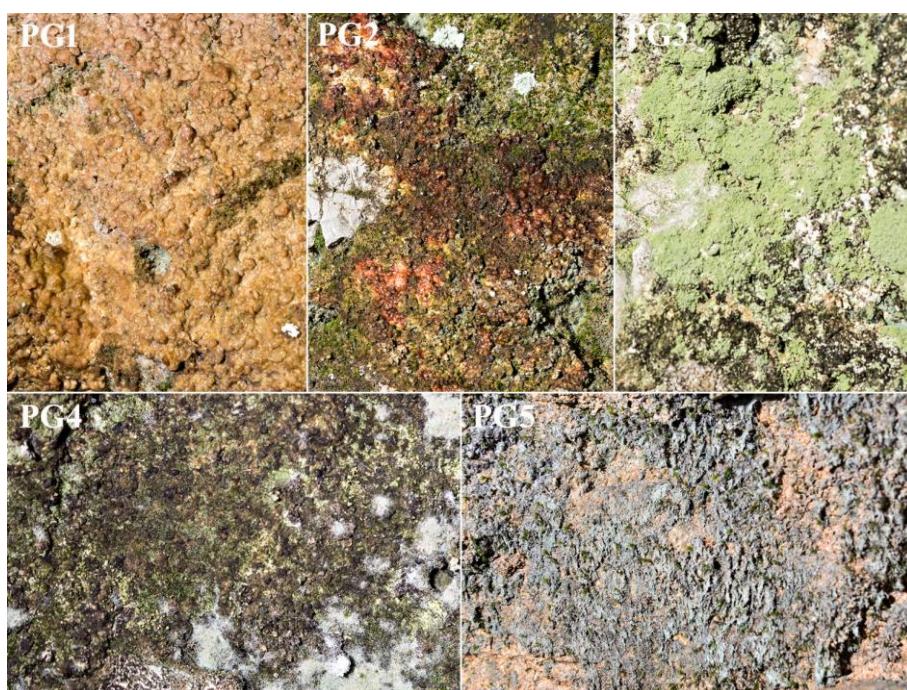


Slika 30. Fotografije tačaka uzorkovanja u Cerjanskoj pećini.

U Prekonoškoj pećini uzorkovano je na 9 mesta (Slika 31 – 32).



Slika 31. Fotografije tačaka uzorkovanja u Prekonoškoj pećini – donji ulaz.



Slika 32. Fotografije tačaka uzorkovanja u Prekonoškoj pećini – gornji ulaz.

Na donjem ulazu odabrane su 4 tačke uzorkovanja (PD1 – PD4) (Slika 31), a 5 tačaka (PG1 – PG5) na gornjem ulazu (Slika 32). Braon, ljubičasti biofilm i biofilmovi tamnije boje bili su prisutni na pećinskom zidu donjeg ulaza, a još veći raspon boja biofilmova bio je prisutan na zidu i plafonu gornjeg ulaza (narandžasta, crvena, zelena,

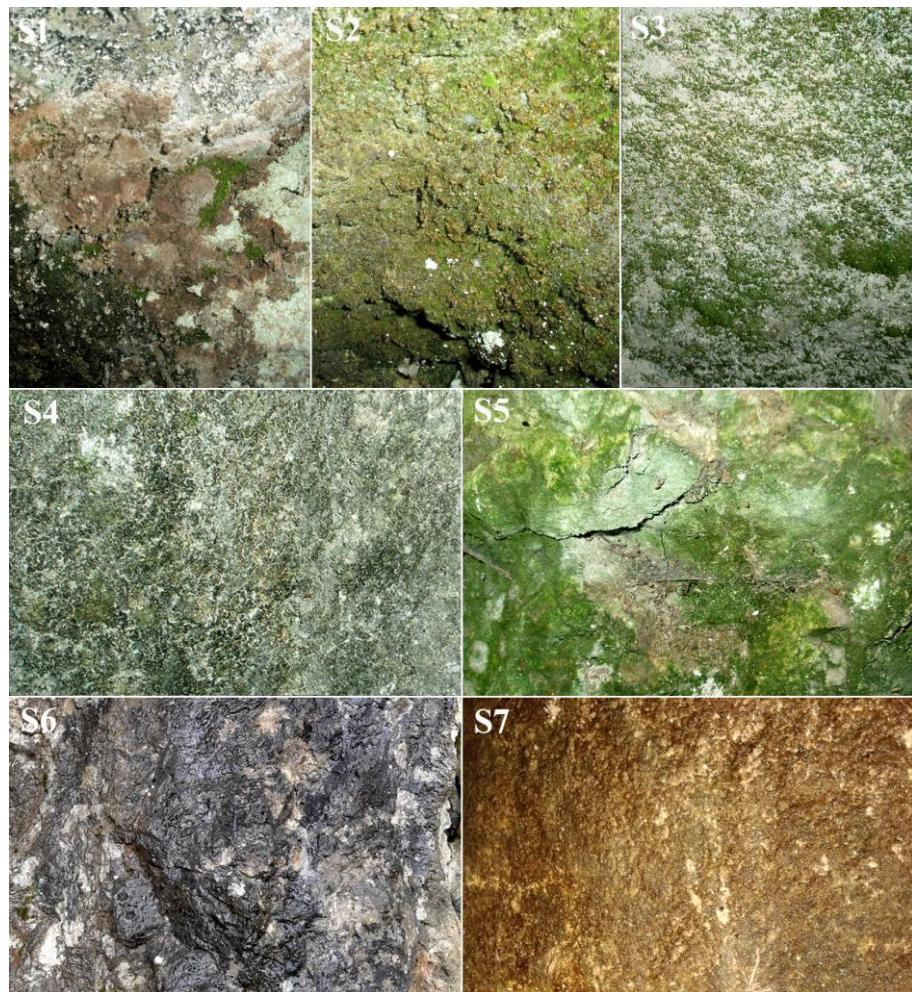
crna i plava). Izrazito želatinozni biofilmovi su braon biofilm na tački PD1, i narandžasti i crveni biofilm na tačkama PG1 i PG2.

U Petničkoj pećini uzorkovano je samo sa tri tačke (PE1 – PE3) (Slika 33). Po neobičnosti se izdvajaju biofilmovi na tačkama PE2 i PE3. Pored toga što su bili razvijeni na velikoj površini stenovitog supstrata, imali su karakterističan izgled. Biofilm na tački PE2 bio je veoma dobro razvijen, želatinozan i jarkoljubičaste boje, dok je biofilm na tački PE3 na dodir hrapav i na pojedinim mestima imao bele naslage.



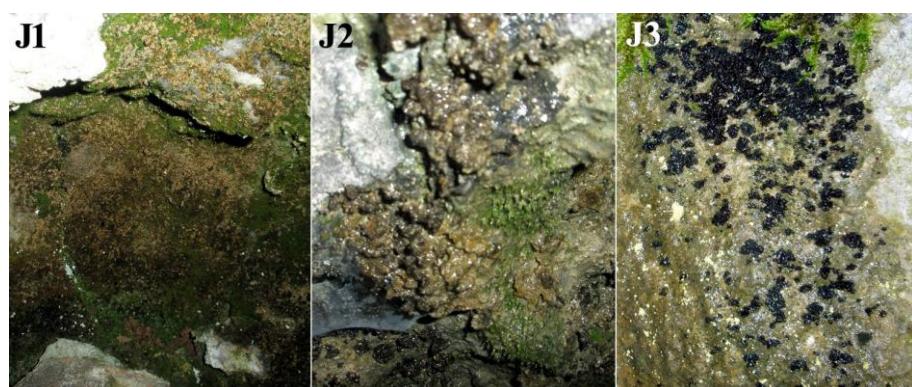
Slika 33. Fotografije tačaka uzorkovanja u Petničkoj pećini.

U pećini Samar (Slika 34) boja, izgled i struktura biofilma su varirali od mesta do mesta uzorkovanja (S1-S6): od suvog crvenog biofilma na mestu uzorkovanja S1, preko želatinoznog žućastobraon biofilma na tački S2, do zelenih ili tamnih biofilmova na ostalim tačkama. U ovoj pećini, biofilm na svakoj tački uzorkovan je sezonski, četiri puta godišnje.



Slika 34. Fotografije tačaka uzorkovanja u pećini Samar – decembar.

U pećini Jezava, tri tačke (J1 – J3) su izabrane kako reprezentativne (Slika 35).



Slika 35. Fotografije tačaka uzorkovanja u pećini Jezava - decembar.

Razvijen biofilm braonsmeđe boje nalazio se na mestu uzorkovanja J1, braon želatinozan biofilm na mestu uzorkovanja J2, a na tački J3 bio je prisutan biofilm crne boje. Kao i u pećini Samar, biofilm je i ovde uzorkovan sezonski.

4.2. Vrednosti ekoloških parametara

Tokom celog perioda istraživanja, na svakoj tački uzorkovanja, mereni su sledeći ekološki parametri: temperatura vazduha (T), relativna vlažnost vazduha (RV) i intenzitet svjetlosti (IS). Vrednosti ovih parametara prikazani su tabelarno (Tabela 2), zajedno sa podacima o položaju svake tačke uzorkovanja i njene udaljenosti od ulaza pećine ili reflektora u unutrašnjosti pećine. Položaj tačke uzorkovanja daje informaciju o tome da li se ona nalazi na zidu pećinskog ulaza sa leve ili desne strane, na sredini (na primer izolovana stena), na horizontalnoj površini ili plafonu pećine, ili se pak ne nalazi na ulazu, nego u unutrašnjosti pećine (nedaleko od veštačkog osvetljenja).

Tabela 2. Vrednosti ekoloških parametara (temperatura vazduha (T), relativna vlažnost vazduha (RV) i intenzitet svjetlosti (IS)) na svim tačkama uzorkovanja zajedno sa podacima o udaljenosti svake tačke uzorkovanja od ulaza pećine ili reflektora u unutrašnjosti i njenom položaju.

	Tačka uzorkovanja	T (°C)	RV (%)	IS (Lux)	Položaj	Udaljenost od ulaza ili reflektora (m)
<i>Božanina pećina</i>	B1	20,6 ± 0,05	72,0 ± 3,0	511 ± 5	*	6,0
	B2	20,6 ± 0,12	73,0 ± 2,0	391 ± 6	*	6,0
	B3	20,1 ± 0,10	82,0 ± 1,0	321 ± 3	*	7,0
	B4	20,1 ± 0,08	81,0 ± 3,0	348 ± 2	*	9,0
	B5	20,1 ± 0,09	81,0 ± 1,0	320 ± 1	*	9,0
	B6	20,1 ± 0,17	81,0 ± 2,0	165 ± 3	*	9,0
	B7	20,0 ± 0,11	82,0 ± 0,0	123 ± 2	*	9,0
	B8	19,8 ± 0,15	79,0 ± 2,0	571 ± 5	*	5,5
<i>Ribička pećina</i>	R1	17,7 ± 0,10	63,0 ± 3,0	894 ± 9	**	8,0
	R2	17,8 ± 0,09	65,0 ± 3,0	680 ± 8	**	9,0
	R3	17,6 ± 0,10	62,0 ± 2,0	34,5 ± 4	**	13,0
	R4	17,9 ± 0,10	63,0 ± 1,0	49,3 ± 2	**	13,5

	R5	$17,7 \pm 0,08$	$65,0 \pm 3,0$	$35,7 \pm 2$	**	14,0
	R6	$17,4 \pm 0,07$	$68,0 \pm 2,0$	661 ± 5	** #	22,0
	R7	$16,9 \pm 0,05$	$69,0 \pm 3,0$	289 ± 3	**	26,0
<i>Hadži Prodanova pećina</i>	HP1	$22,3 \pm 0,11$	$68,0 \pm 2,0$	4400 ± 15	**	5,0
	HP2	$24,5 \pm 0,15$	$64,0 \pm 1,0$	3910 ± 21	*	6,0
	HP3	$24,9 \pm 0,10$	$61,0 \pm 1,0$	2740 ± 17	*	7,0
	HP4	$21,2 \pm 0,15$	$73,0 \pm 1,0$	2650 ± 19	**	7,0
	HP5	$20,1 \pm 0,10$	$73,0 \pm 2,0$	314 ± 9	**	5,8
<i>Degurička pećina</i>	D1	$22,4 \pm 0,11$	$62,0 \pm 3,0$	108 ± 9	**	3,0
	D2	$20,8 \pm 0,10$	$63,0 \pm 2,0$	250 ± 8	**	3,5
	D3	$20,4 \pm 0,10$	$69,0 \pm 2,0$	140 ± 6	**	4,5
	D4	$20,0 \pm 0,05$	$67,0 \pm 3,0$	111 ± 7	**	5,0
	D5	$19,7 \pm 0,08$	$82,0 \pm 1,0$	241 ± 5	**	1,0
<i>Réčanska pećina</i>	RC1	$20,6 \pm 0,10$	$76,0 \pm 1,0$	$21,5 \pm 4$	***	22,0
	RC2	$19,0 \pm 0,15$	$77,0 \pm 2,0$	498 ± 7	*** #	24,0
	RC3	$17,3 \pm 0,10$	$83,0 \pm 3,0$	218 ± 9	*	34,0
	RC4	$17,2 \pm 0,10$	$87,0 \pm 2,0$	278 ± 10	*	34,0
	RC5	$18,0 \pm 0,15$	$83,0 \pm 3,0$	433 ± 6	*	30,0
<i>Pećina Verrijikica</i>	V1	$17,1 \pm 0,10$	$68,0 \pm 1,0$	67 ± 4	**	2,0
	V2	$17,3 \pm 0,10$	$65,0 \pm 2,0$	210 ± 7	**	2,3
	V3	$17,1 \pm 0,10$	$67,0 \pm 2,0$	380 ± 8	**	2,5
	V4	$21,1 \pm 0,15$	$56,0 \pm 1,0$	230 ± 9	**	2,5
	V5	$21,3 \pm 0,10$	$53,0 \pm 2,0$	780 ± 10	*	1,7
<i>Pećina kod Sove</i>	SV1	$19,8 \pm 0,10$	$68,0 \pm 2,0$	180 ± 11	***	7,0
	SV2	$19,3 \pm 0,13$	$58,0 \pm 1,0$	260 ± 9	***	7,0
	SV3	$18,3 \pm 0,09$	$56,0 \pm 1,0$	300 ± 8	*	5,0
<i>Lazareva pećina</i>	L1	$23,6 \pm 0,05$	$49,0 \pm 1,0$	770 ± 11	*	0
	L2	$23,1 \pm 0,09$	$48,0 \pm 2,0$	251 ± 8	*	0
	L3	$26,1 \pm 0,07$	$45,0 \pm 2,0$	1600 ± 29	*	0
	L4	$20,1 \pm 0,15$	$51,0 \pm 1,0$	$7,50 \pm 2$	###	3,0
	L5	$15,9 \pm 0,10$	$63,0 \pm 3,0$	$15,90 \pm 2$	###	3,5
	L6	$15,8 \pm 0,01$	$65,0 \pm 2,0$	$15,80 \pm 2$	###	0,5
<i>Bogovinska pećina</i>	BG1	$15,1 \pm 0,07$	$78,0 \pm 2,0$	440 ± 6	*	2,0
	BG2	$14,8 \pm 0,14$	$81,0 \pm 3,0$	245 ± 7	*	2,5
	BG3	$14,8 \pm 0,20$	$79,0 \pm 2,0$	385 ± 9	*	2,8
	BG4	$14,7 \pm 0,21$	$80,0 \pm 1,0$	276 ± 8	*	3,3
	BG5	$13,9 \pm 0,15$	$83,0 \pm 2,0$	61 ± 2	*	3,7

<i>Mandina pećina</i>	M1	$14,7 \pm 0,17$	$85,0 \pm 1,0$	586 ± 17	*	2,5
	M2	$14,5 \pm 0,05$	$86,0 \pm 2,0$	494 ± 10	*	2,7
	M3	$14,2 \pm 0,20$	$89,0 \pm 3,0$	180 ± 6	*	3
	M4	$14,1 \pm 0,10$	$91,0 \pm 1,0$	85 ± 4	*	3,3
	M5	$14,7 \pm 0,10$	$87,0 \pm 2,0$	71 ± 6	*	3,4
<i>Cerjanska pećina vrelo kod Kravljia</i>	C1	$22,4 \pm 0,20$	$55,0 \pm 1,0$	250 ± 9	*	0
	C2	$17,8 \pm 0,20$	$58,0 \pm 2,0$	192 ± 11	*	1,5
	C3	$16,4 \pm 0,20$	$59,0 \pm 3,0$	55 ± 6	*	5,5
	C4	$16,4 \pm 0,10$	$59,0 \pm 2,0$	45 ± 2	*	6,1
	C5	$18,4 \pm 0,15$	$54,0 \pm 1,0$	25 ± 2	**	1,8
<i>Prekonoška pećina</i>	PD1	$15,1 \pm 0,20$	$67,0 \pm 2,0$	217 ± 4	***	12
	PD2	$15,1 \pm 0,20$	$67,0 \pm 1,0$	218 ± 5	***	12
	PD3	$15,1 \pm 0,25$	$67,0 \pm 2,0$	143 ± 3	***	12
	PD4	$15,1 \pm 0,10$	$67,0 \pm 3,0$	123 ± 2	***	12
	PG1	$13,3 \pm 0,15$	$70,0 \pm 2,0$	442 ± 5	*##	3,5
	PG2	$13,3 \pm 0,10$	$70,0 \pm 2,0$	460 ± 5	*##	2
	PG3	$13,3 \pm 0,07$	$70,0 \pm 2,0$	30 ± 1	**##	3
	PG4	$13,3 \pm 0,10$	$70,0 \pm 2,0$	38 ± 1	**##	3
	PG5	$13,3 \pm 0,15$	$70,0 \pm 1,0$	44 ± 2	**	6
	PE1	$14,6 \pm 0,20$	$93,0 \pm 3,0$	155 ± 3	**	15
<i>Penička pećina</i>	PE2	$14,3 \pm 0,10$	$95,0 \pm 3,0$	24 ± 1	*	20
	PE3	$14,3 \pm 0,09$	$95,0 \pm 2,0$	11 ± 2	*	20
	SD1	$4,6 \pm 0,10$	$69,0 \pm 3,0$	402 ± 4	Mali ulaz **	0,5
<i>Samar dec 2015</i>	SD2	$4,9 \pm 0,05$	$72,0 \pm 2,0$	177 ± 3	Mali ulaz **	0,5
	SD3	$7,3 \pm 0,09$	$57,0 \pm 2,0$	157 ± 2	Veliki ulaz **	7,0
	SD4	$5,0 \pm 0,10$	$65,0 \pm 2,0$	101 ± 2	Veliki ulaz **	8,5
	SD5	$4,6 \pm 0,05$	$65,0 \pm 1,0$	104 ± 2	Veliki ulaz *	6,0
	SD6	$4,2 \pm 0,10$	$73,0 \pm 3,0$	815 ± 7	Veliki ulaz **	0
	SM1	$9,8 \pm 0,10$	$61,0 \pm 3,0$	1538 ± 21	Mali ulaz **	0,5
<i>Samar mart 2016</i>	SM2	$9,4 \pm 0,10$	$65,0 \pm 2,0$	1300 ± 11	Mali ulaz **	0,5
	SM3	$9,0 \pm 0,10$	$62,0 \pm 3$	810 ± 8	Veliki ulaz **	7,0
	SM4	$8,2 \pm 0,20$	$65,0 \pm 3,0$	851 ± 8	Veliki ulaz **	8,5
	SM5	$7,7 \pm 0,10$	$66,0 \pm 2,0$	573 ± 9	Veliki ulaz *	6,0
	SM6	$8,0 \pm 0,10$	$66,0 \pm 3,0$	633 ± 21	Veliki ulaz **	0
	SM7	$7,8 \pm 0,20$	$72,0 \pm 3,0$	92 ± 3	Veliki ulaz **	15
	SMa1	$13,0 \pm 0,20$	$65,0 \pm 2,0$	995 ± 5	Mali ulaz **	0,5
<i>Samar maj 2016</i>	SMa2	$13,0 \pm 0,10$	$65,0 \pm 2,0$	617 ± 9	Mali ulaz **	0,5
	SMa3	$15,4 \pm 0,10$	$64,0 \pm 3,0$	371 ± 7	Veliki ulaz **	7,0
	SMa4	$15,8 \pm 0,15$	$63,0 \pm 2,0$	360 ± 10	Veliki ulaz **	8,5
	SMa5	$15,28 \pm 0,05$	$59,0 \pm 3,0$	234 ± 9	Veliki ulaz *	6,0

	SMa6	$16,2 \pm 0,15$	$61,0 \pm 2,0$	1452 ± 32	Veliki ulaz **	0
	SMa7	$16,6 \pm 0,05$	$57,0 \pm 1,0$	30 ± 2	Veliki ulaz **	15
Samar avg 2016	SA1	$11,6 \pm 0,15$	$79,0 \pm 2,0$	905 ± 9	Mali ulaz **	0,5
	SA2	$11,5 \pm 0,15$	$79,0 \pm 2,0$	2503 ± 22	Mali ulaz **	0,5
	SA3	$22,7 \pm 0,05$	$42,0 \pm 2,0$	655 ± 12	Veliki ulaz **	7,0
	SA4	$22,7 \pm 0,05$	$44,0 \pm 2,0$	575 ± 10	Veliki ulaz **	8,5
	SA5	$21,2 \pm 0,05$	$49,0 \pm 2,0$	300 ± 9	Veliki ulaz *	6,0
	SA6	$24,3 \pm 0,15$	$40,0 \pm 1,0$	1250 ± 12	Veliki ulaz **	0
	SA7	$21,8 \pm 0,05$	$47,0 \pm 2,0$	47 ± 3	Veliki ulaz **	15
	JD1	$4,2 \pm 0,05$	$76,0 \pm 2,0$	41 ± 2	**	3
Jezava dec 2015	JD2	$4,1 \pm 0,10$	$71,0 \pm 2,0$	51 ± 2	***	3,3
	JD3	$3,7 \pm 0,10$	$76,0 \pm 3,0$	125 ± 6	**	0
	JM1	$8,9 \pm 0,10$	$72,0 \pm 2,0$	117 ± 4	**	3
	JM2	$8,6 \pm 0,10$	$73,0 \pm 2,0$	720 ± 11	***	3,3
Jezava mart	JM3	$8,9 \pm 0,15$	$78,0 \pm 3,0$	3500 ± 32	**	0
	JMa1	$14,4 \pm 0,10$	$71,0 \pm 2,0$	256 ± 5	**	3
	JMa2	$14,1 \pm 0,10$	$73,0 \pm 2,0$	29 ± 2	***	3,3
	JMa3	$15,1 \pm 0,10$	$71,0 \pm 1,0$	383 ± 7	**	0
Jezava maj 2016	JA1	$19,8 \pm 0,10$	$48,0 \pm 2,0$	173 ± 5	**	3
	JA2	-	-	-	***	3,3
	JA3	$25,7 \pm 0,10$	$40,0 \pm 2,0$	593 ± 7	**	0

Legenda: * Levo od ulaza, ** Desno od ulaza, *** Sredina, # Horizontalno – zemlja, ## Plafon, ### Unutrašnjost pećine.

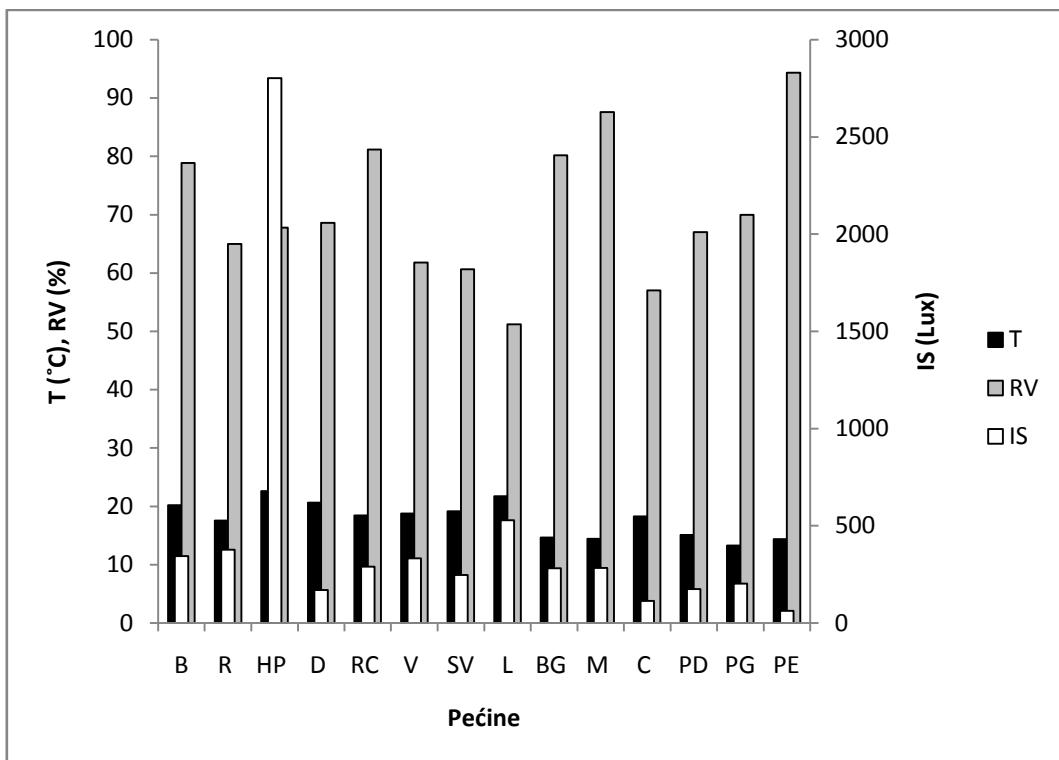
Vrednosti temperature vazduha uglavnom su bliske na tačkama uzorkovanja jedne pećine. Mala variranja u temperaturi vazduha, do $1,0^{\circ}\text{C}$, zapažena su kod Petničke pećine i pećine Jezava u martu (razlika od svega $0,3^{\circ}\text{C}$), pećine Jezava u decembru (razlika od svega $0,5^{\circ}\text{C}$), Božanine i Mandine pećine (razlika od svega $0,6^{\circ}\text{C}$) i Ribničke pećine ($1,0^{\circ}\text{C}$). Najveća variranja temperature vazduha između tačaka uzorkovanja zapažena su kod pećine Jezava u avgustu (razlika od $5,9^{\circ}\text{C}$), Cerjanske pećine (razlika od $6,0^{\circ}\text{C}$), Lazareve pećine (razlika od $10,3^{\circ}\text{C}$) i pećine Samar u avgustu (razlika od $12,8^{\circ}\text{C}$). Variranja temperature vazduha kod ostalih pećina bila su u rasponu od $1,0 - 5,0^{\circ}\text{C}$. Najmanja vrednost temperature vazduha zabeležena je u pećini Jezava tokom decembra ($3,7^{\circ}\text{C}$), a najveća vrednost na tački L3 ($26,1^{\circ}\text{C}$).

Kao što je to slučaj sa temperaturom vazduha, vrednosti relativne vlažnosti vazduha na tačkama uzorkovanja na nivou jedne pećine su takođe uglavnom bliske. U

Prekonoškoj pećini vrednosti su bile iste i na tačkama uzorkovanja gornjeg i na tačkama uzorkovanja donjeg ulaza. Veoma male razlike u vrednostima relativne vlažnosti zapažene su kod pećine Jezava u maju i Petničke pećine (2%), Cerjanske pećine (5%) i Bogovinske pećine (5%). Najveće razlike u vrednostima relativne vlažnosti između tačaka uzorkovanja zapažene su kod pećine Samar u avgustu (39%), Deguričke i Lazareve pećine (20% kod obe pećine). Kod ostalih pećina, ova razlika je bila u rasponu od 5 do 16%. Najmanja vrednost relativne vlažnosti vazduha zabeležena je u pećinama Samar i Jezava tokom avgusta (40%), a najveća na tačkama PE2 i PE3 (95%).

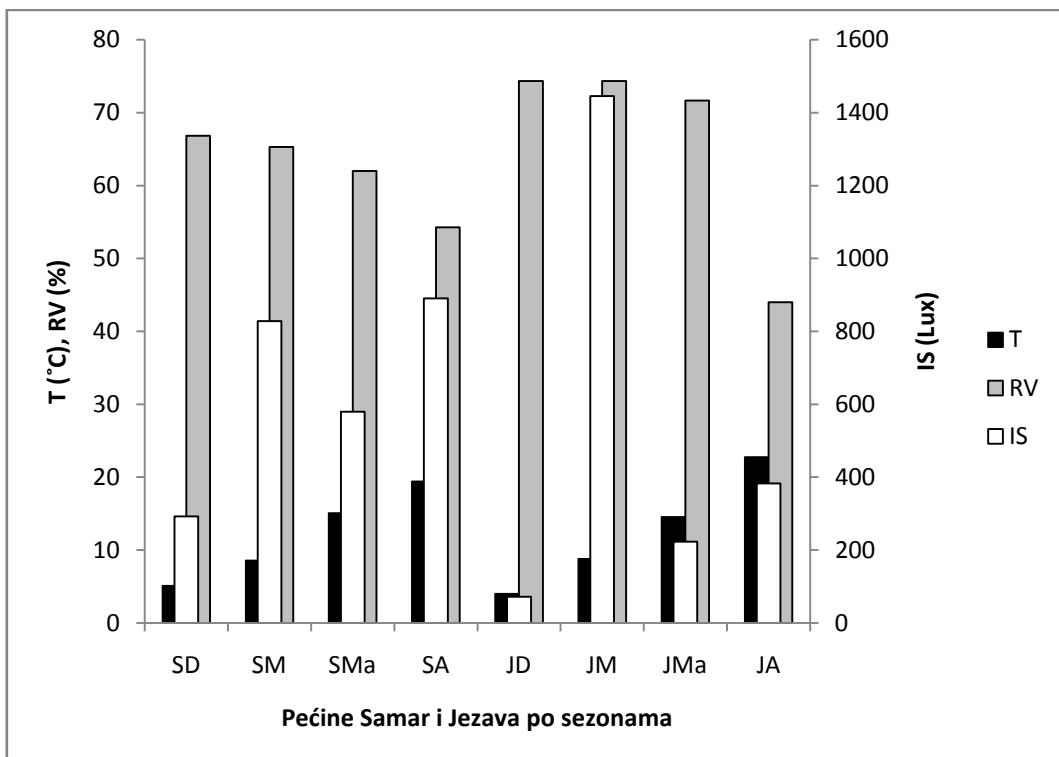
Vrednosti intenziteta svetlosti su značajno varirale, kako između tačaka uzorkovanja u samim pećinama, tako i uopšteno. Najmanja variranja u intenzitetu svetlosti između tačaka uzorkovanja bila su u Prekonoškoj pećini (donji ulaz, razlika od 95 Lux) i u pećini kod Sove (razlika od 120 Lux), a najviša u Lazarevoj (razlika od 1592,5 Lux) i Hadži Prodanovoj pećini (razlika od 4292 Lux). Najniža vrednost intenziteta svetlosti od 7,5 Lux zabeležena je na tački L4, dok je najviša vrednost izmerena na HP1 (4400 Lux).

Grafik 1 daje prikaz srednjih vrednosti merenih ekoloških parametara na svim lokalitetima, osim pećina Samar i Jezava, dok Grafik 2 daje prikaz ovih vrednosti u pećinama Samar i Jezava, po sezonama. Prosečne vrednosti temperature, relativne vlažnosti i intenziteta svetlosti izračunate su za svaku pećinu na osnovu izmerenih vrednosti za svaku tačku uzorkovanja na tom lokalitetu (u slučaju pećina Samar i Jezava, prosečne vrednosti ovih prametara izračunate su po sezoni). Prosečne vrednosti temperature su prilično ujednačene među pećinama – najmanja prosečna vrednost temperature izmerena je u pećini Jezava tokom decembra ($4,00^{\circ}\text{C}$), a najviša u Hadži Prodanovoj pećini ($22,60^{\circ}\text{C}$). Prosečne vrednosti relativne vlažnosti su varirale od pećine do pećine. Najniža vrednost zabeležena u Lazarevoj pećini (51,2%), a najviša vrednost u Petničkoj pećini (94,33%). Najveće varijacije zabeležene su za vrednosti intenziteta svetlosti. Najmanja prosečna vrednost intenziteta svetlosti zabeležena je u Petničkoj pećini (63,33 Lux), dok je najviša izmerena u Hadži Prodanovoj pećini (2802,8 Lux).



Grafik 1. Prikaz srednjih vrednosti merenih ekoloških parametara (T - temperature, RV – relativne vlažnosti i IS - intenziteta svetlosti) na svim lokalitetima, osim pećina Samar i Jezava.

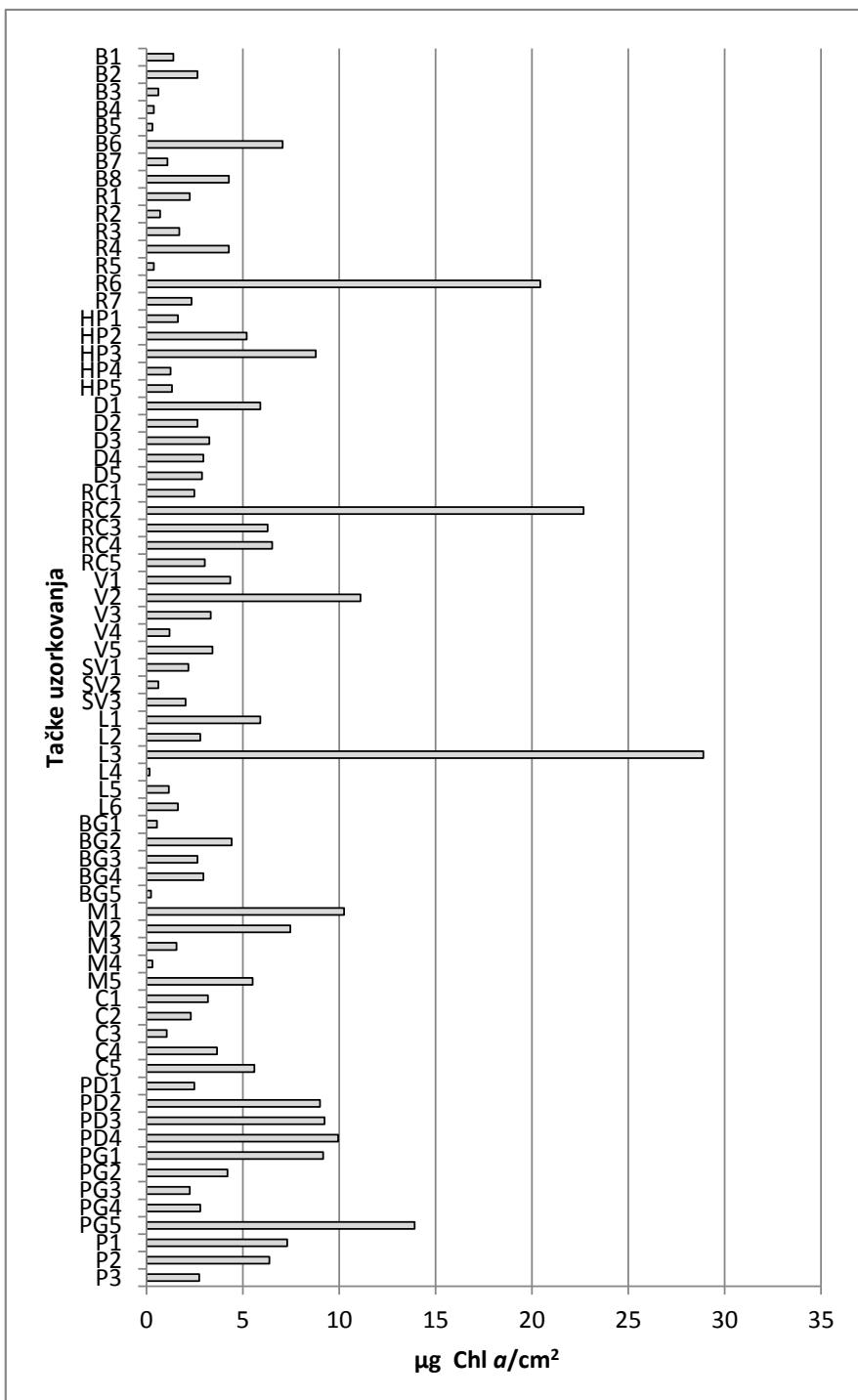
S obzirom da je uzorkovanje u pećinama Samar i Jezava vršeno sezonski, na Grafiku 2 prikazane su prosečne vrednosti merenih ekoloških parametara u ove dve pećine tokom četiri sezone. U pećini Samar, najniža temperatura izmerena je tokom decembra, a najviša tokom avgusta, što važi i za vrednosti intenziteta svetlosti, dok je situacija obrnuta u slučaju relativne vlažnosti. U pećini Jezava trend je isti za temperaturu i relativnu vlažnost, dok je intenzitet svetlosti bio najniži, takođe u decembru, ali najviši u martu.



Grafik 2. Prosečne vrednosti merenih ekoloških parametara u pećinama Samar i Jezava po sezonama. D – decembar, M – mart, Ma – maj, A – avgust.

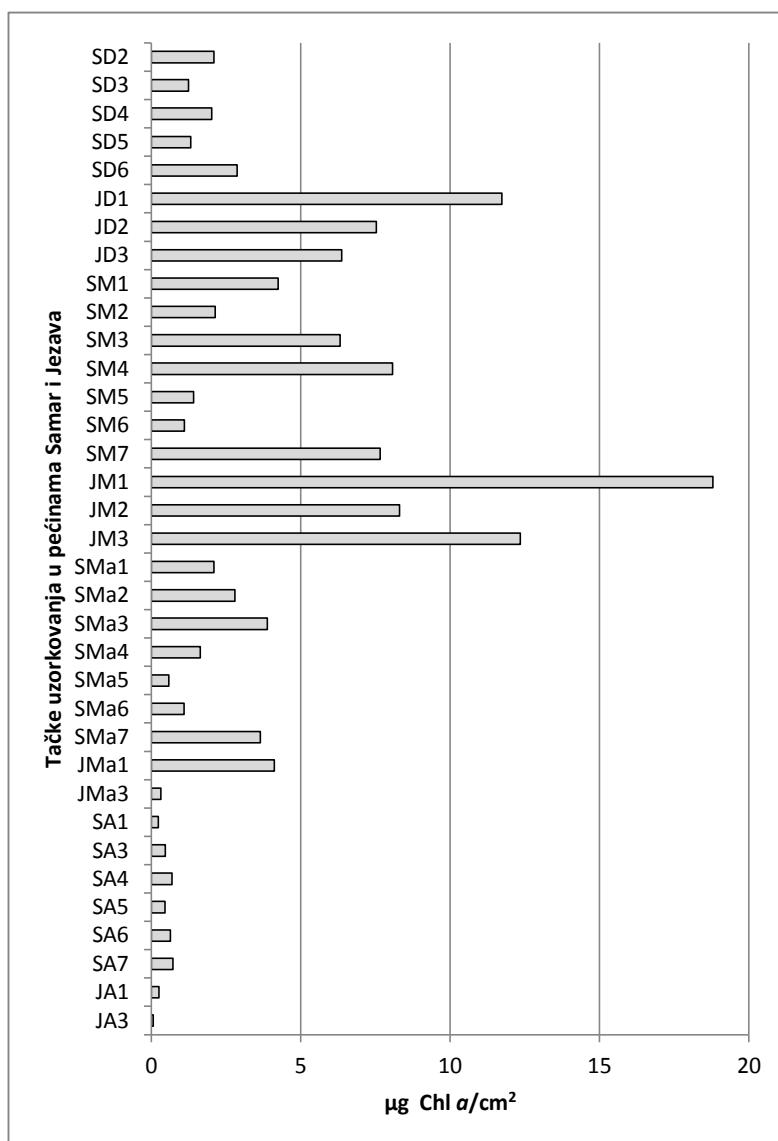
4.3. Koncentracija hlorofila *a* u uzorcima biofilma

Koncentracija hlorofila *a* je veoma varirala, kako među tačkama uzorkovanja u jednoj pećini, tako i među pećinama. Vrednosti koncentracije hlorofila *a* prikazane su na graficima 3 i 4, pri čemu su na Grafiku 3 prikazane vrednosti ovog parametra za sve lokalitete, osim pećina Samar i Jezava, a na Grafiku 4 vrednosti za tačke uzorkovanja samo u pećinama Samar i Jezava, po sezonama. Najniža koncentracija hlorofila *a* zabeležena je na JA3, a najviša vrednost od $28,89 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$ na tački L3. U velikom broju pećina uzorkovani su biofilmovi u kojima je koncentracija hlorofila *a* imala vrednosti manje od $1 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$: neke tačke u Božaninoj pećini, Ribničkoj pećini, pećini kod Sove, Lazarevoj pećini, Bogovinskoj pećini, Mandinoj pećini, kao i pećinama Samar i Jezava, naročito u avgustu. Koncentracija hlorofila *a* imala je visoke vrednosti (iznad $15 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$) u četiri različita uzorka biofilma koji su uzeti iz Ribničke, Rćanske, Lazareve pećine i pećine Jezava.



Grafik 3. Koncentracija hlorofila *a* po tačkama uzorkovanja u svim pećinama, osim pećina Samar i Jezava.

Vrednosti koncentracije hlorofila *a* u pećinama Samar i Jezava (Grafik 4) značajno su varirale u zavisnosti od sezone u kojoj je vršeno uzorkovanje. Najniža koncentracija hlorofila *a* u pećini Samar od $0,22 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$ zabeležena je na tački SA1, a najviša ($8,07 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$) na tački SM4. Što se tiče pećine Jezava, takođe je najniža vrednost hlorofila *a* od $0,06 \mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$ zabeležena tokom avgusta, na JA3, a najviša tokom marta na JM1. Sa Grafika 4 se zapaža da generalno na većini tačaka uzorkovanja koncentracija hlorofila *a* ima najviše vrednosti u martu i decembru, a najniže tokom avgusta.

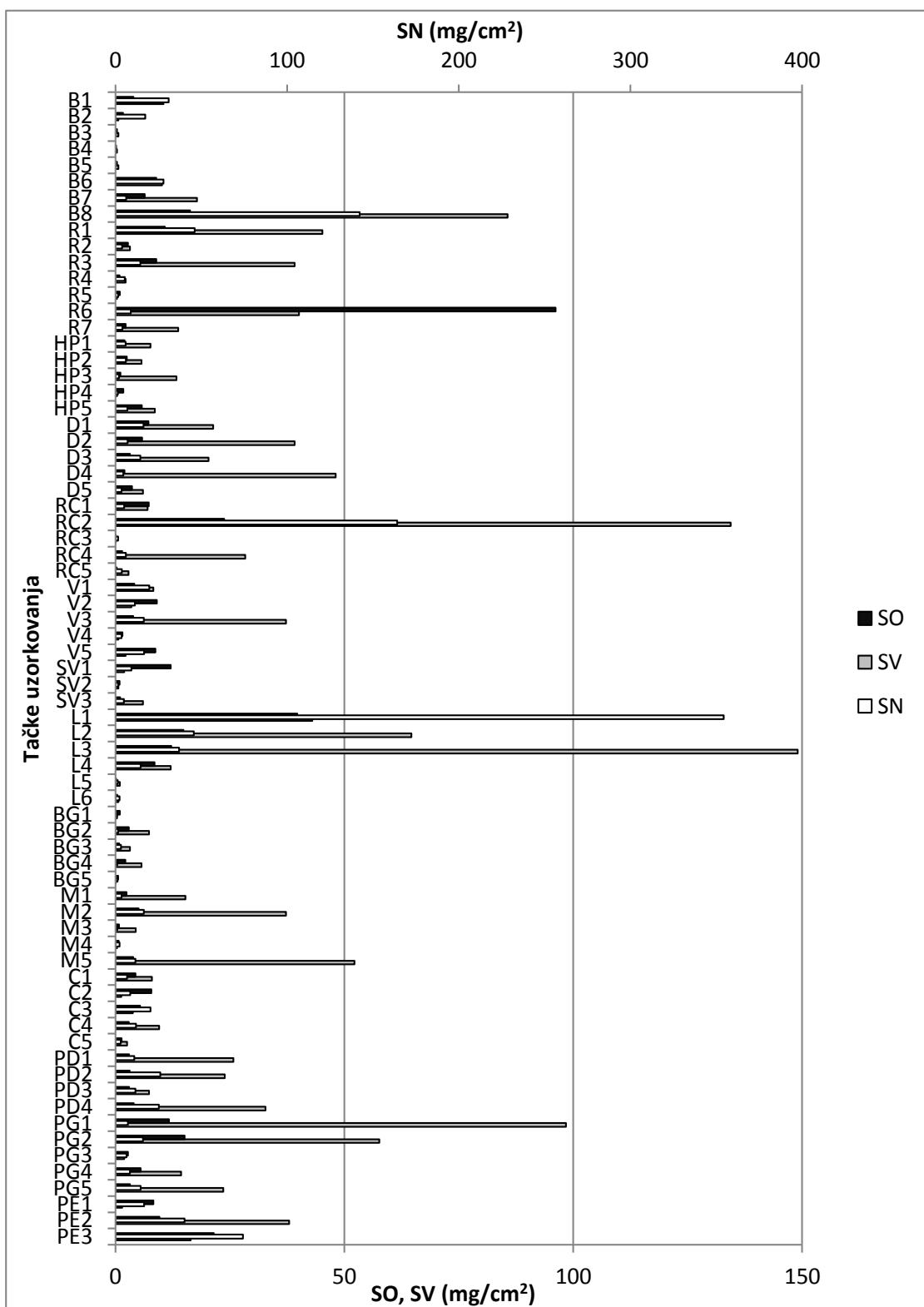


Grafik 4. Koncentracija hlorofila *a* u pećinama Samar i Jezava po sezonama.

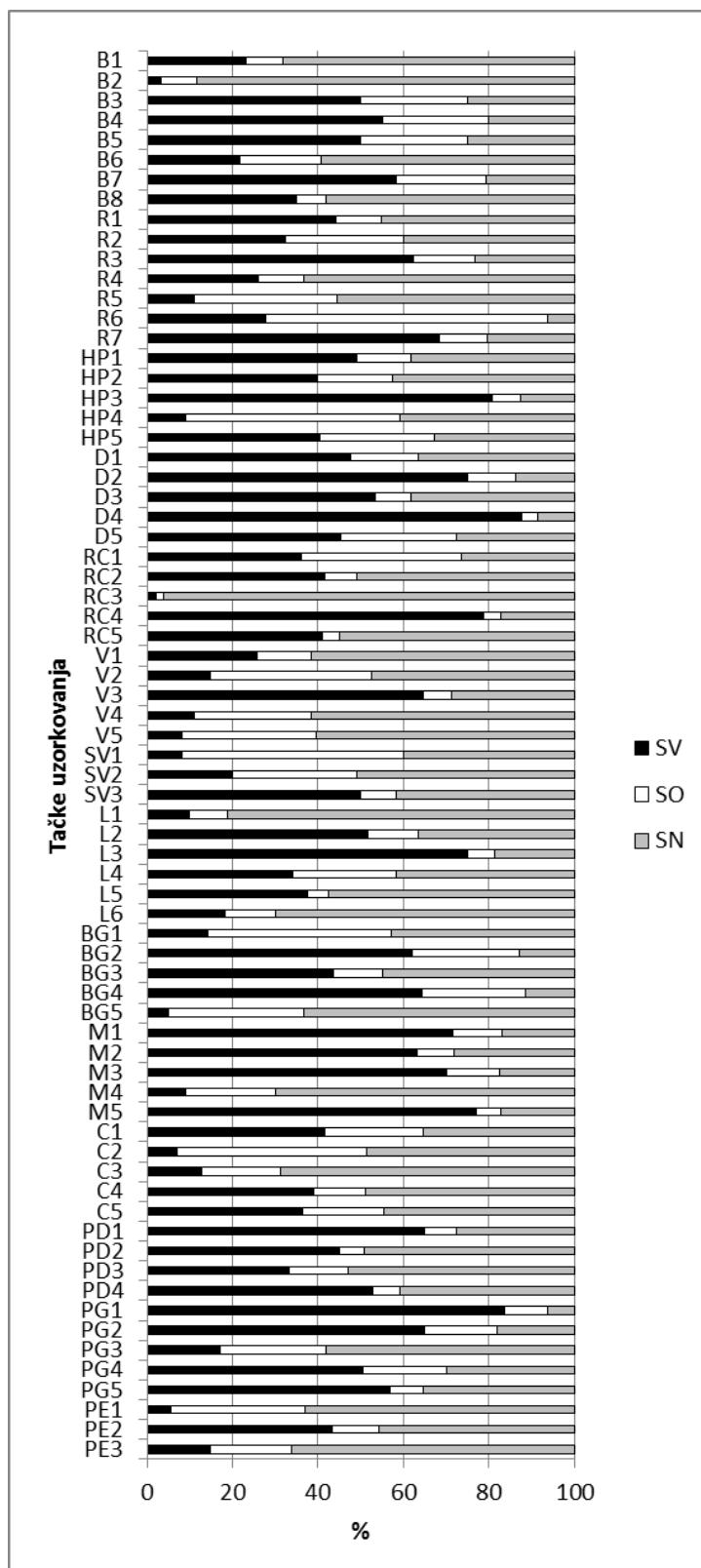
4.4. Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu

U svakom uzorku biofilma izračunat je sadržaj vode, organske i neorganske materije. Vrednosti ovih parametara izražene su na dva načina: po jedinici površine - gde dobijamo informaciju koliko miligrama svake komponente ima na jednom centimetru kvadratnom (mg/cm^2) i procentualno - na osnovu čega vidimo procentualni deo ovih parametara u svakom uzorku biofilma.

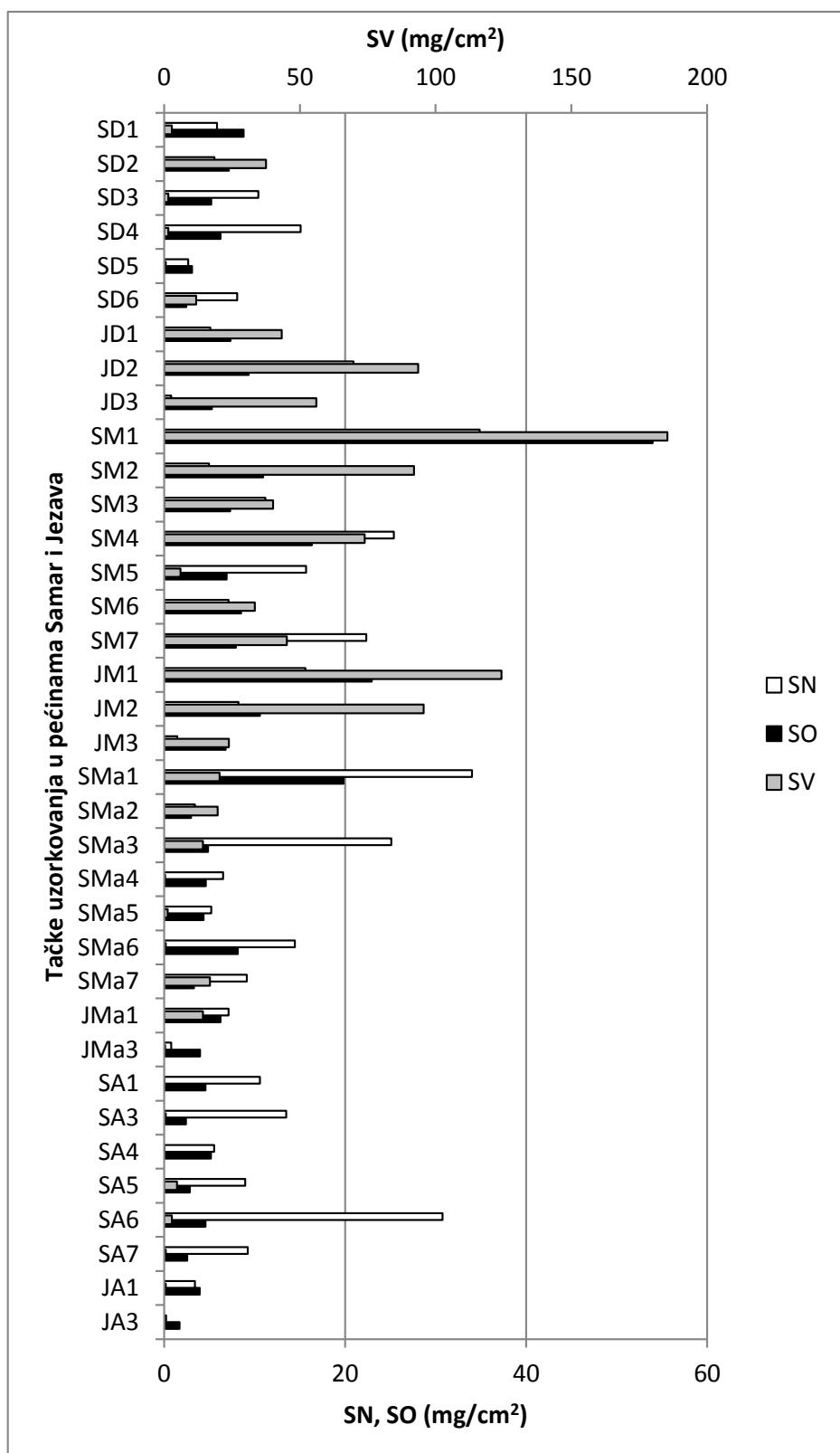
Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu (izraženi kao mg/cm^2), određeni su u svakom uzorku biofilma i prikazani su na Grafiku 5 (sve pećine osim pećina Samar i Jezava) i Grafiku 7 (pećine Samar i Jezava), dok je procentualni odnos istih parametara u svakom uzorku biofilma prikazan na Grafiku 6 (sve pećine osim pećina Samar i Jezava) i Grafiku 8 (pećine Samar i Jezava). Sadržaj vode u uzorcima biofilma varira od $0,03 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (najmanja zabeležena vrednost na tački RC3) do $149,04 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (tačka L3). Međutim, ako posmatramo procentualni odnos ova tri parametra, najmanji procenat vode u biofilmu je na SA1, a najviši u pećini Jezava u decembru na JD1. Sadržaj organske materije varirao je od $0,03 \text{ mg}/\text{cm}^2$ na tački RC3 do $96,11 \text{ mg}/\text{cm}^2$ na tački R6, ali je najveći procenat organske materije u biofilmu bio na JA3 (75,71%). Sadržaj neorganske materije značajno je varirao u zavisnosti od uzorka biofilma, od minimalne vrednosti od $0,13 \text{ mg}/\text{cm}^2$ na tački B4, do vrednosti od čak $354,23 \text{ mg}/\text{cm}^2$ koja je određena u biofilmu sa tačke L1. Posmatrajući procentualno, najniži procenat neorganske materije zabeležen je u biofilmu sa tačke R6, a najviši na tački RC3 (96%). Na Grafiku 5 se može primetiti da pored uzoraka biofilma u kojima su zabeležene maksimalne vrednosti ovih parametara, ima još uzoraka u kojima su zabeležene više vrednosti ili jednog (naročito sadržaja vode), ili sva tri parametra. Sa Grafika 6 vidi se da je u uzorcima biofilma uglavnom u najvećem procentu zastupljena voda i/ili neorganska materija, dok su uzorci u kome procentualno dominira organska materija retki (R6, HP4, SV1).



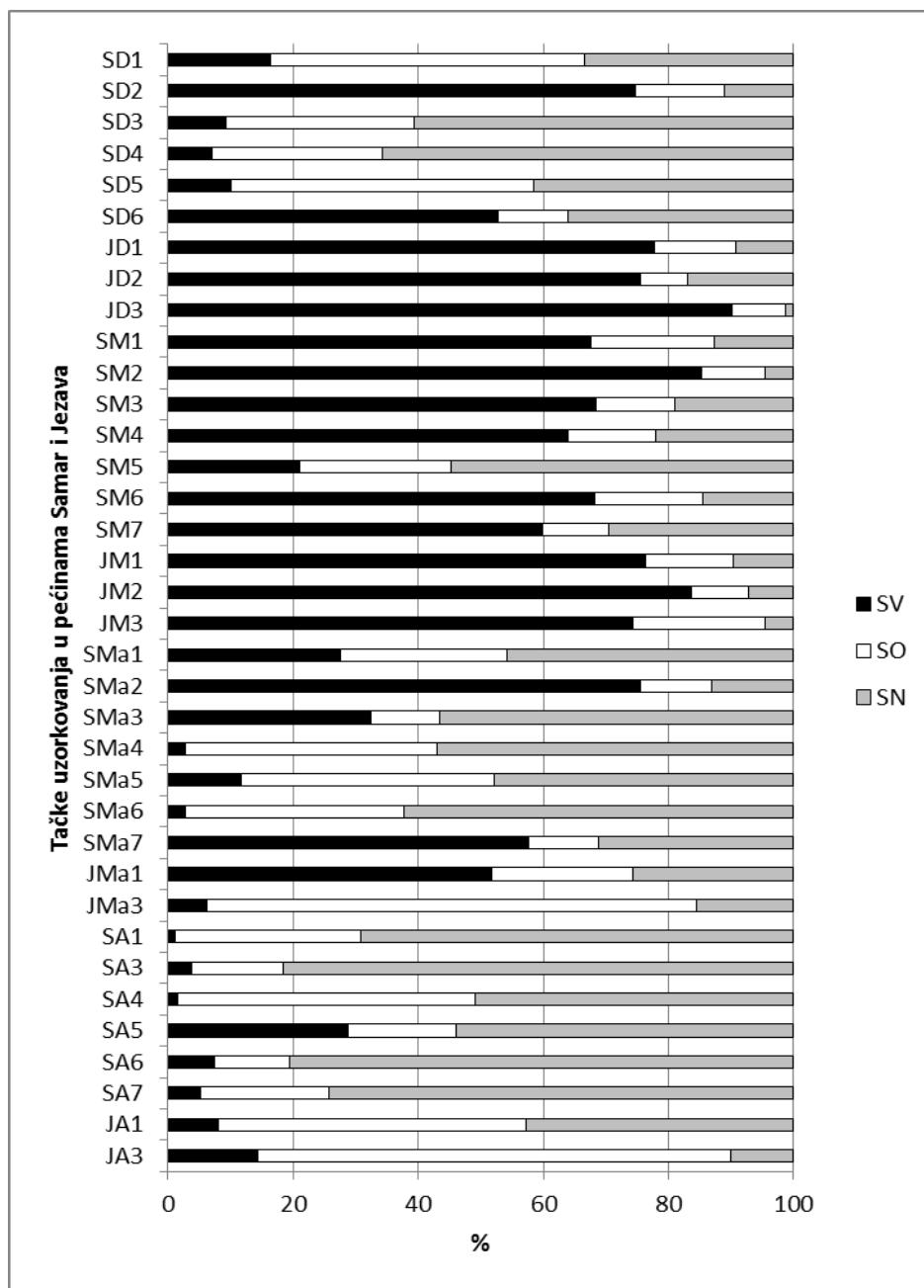
Grafik 5. Sadržaj vode, organske i neorganske materije izražen u mg/cm² u uzorcima biofilma sa svih lokaliteta, osim pećina Samar i Jezava.



Grafik 6. Procentualni udeo vode, organske i neorganske materije u uzorcima biofilma sa svih lokaliteta, osim pećina Samar i Jezava.



Grafik 7. Sadržaj vode, organske i neorganske materije izražen u mg/cm^2 u uzorcima biofilma iz pećina Samar i Jezava.



Grafik 8. Procentualni udeo vode, organske i neorganske materije u uzorcima biofilma u pećinama Samar i Jezava.

Što se tiče sezonskog uzorkovanja pećina Samar i Jezava, neke maksimalne i minimalne vrednosti pomenutih parametara i njihov procentualni udeo u biofilmu pomenute su u pasusu iznad. Svakako se zapaža da se najveće vrednosti svih parametara (kada su izraženi u mg/cm^2) beleže tokom meseca marta. Sadržaj vode je tada u većini uzoraka bio visok, dok se tokom avgusta količina vode u biofilmu skoro uopšte ne ističe

po vrednostima. Sa grafika koji pokazuje procentualni odnos ova tri parametra u svakom uzorku biofilma, zapažamo da u većini uzoraka u maju i avgustu dominira neorganska komponenta, ali u nekoliko uzoraka i organska – SD1, SD5, JMa3 i JA3.

4.5. Taksonomski sastav cijanobakterija i algi

Na osnovu analize svih uzoraka biofilma iz 15 istraživanih pećina u Srbiji, zabeleženo je prisustvo ukupno 290 taksona (rod, vrsta, varijetet ili forma) cijanobakterija i algi, koje su svrstane u 4 razdela po klasifikaciji koju predlaže Reynolds (2006): Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta. Spisak svih identifikovanih taksona cijanobakterija i algi dat je u Tabeli 3, u kojoj se takođe vidi i u kojoj pećini je svaki takson nađen. Mikrografije odabralih taksona prikazane su u Prilogu.

Tabela 3. Spisak svih identifikovanih taksona cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma iz 15 istraživanih pećina u Srbiji (B – Božanina pećina, R – Ribnička pećina, HP – Hadži Prodanova pećina, D – Degurićka pećina, RC – Rćanska pećina, V – Vernjikica, SV – Pećina kod Sove, L – Lazareva pećina, BG – Bogovinska pećina, M – Mandina pećina, S – pećina Samar, J – Jezava, C – Cerjanska pećina, vrelo kod Kravlja, P – Prekonoška pećina (obuhvaćena oba ulaza, donji i gornji), PE – Petnička pećina). * taksoni identifikovani iz uzoraka biofilma; + taksoni identifikovani iz endolitskih uzoraka.

Taksoni	B	R	HP	D	RC	V	SV	L	BG	M	S	J	C	P	PE
Cyanobacteria															
<i>Anathece clathrata</i> (W.West & G.S.West)	*		*											*	*
Komárek, Kastovsky & Jezberová															
<i>Anathece smithii</i> (Komárová-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová															*
<i>Aphanocapsa fusco-lutea</i> Hansgirg	*	*	*	*	*				*	*	*	*	*	*	*
<i>Aphanocapsa muscicola</i> (Meneghini) Wille	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
															+
<i>Aphanocapsa parietina</i> (Nägeli ex Kützing)			*												*
Nägeli															
<i>Aphanocapsa</i> spp. C.Nägeli	*	*	*	*	*						*	*	*		
															+

<i>Aphanothece castagnei</i> (Kützing) Rabenhorst			*	*	*	*
<i>Aphanothece cf. bullosa</i> (Meneghini) Rabenhorst		*	*	*	*	*
<i>Aphanothece pallid</i> (Kützing) Rabenhorst	*					*
<i>Aphanothece saxicola</i> Nägeli	*	*	*	*	*	*
<i>Aphanothece</i> sp. Nägeli	*	*			*	*
<i>Asterocapsa</i> cf. <i>purpurea</i> (C.-C.Jao) H.-J.Chu	*	*	*		*	*
<i>Asterocapsa</i> sp. 1 H.-J.Chu	*	*			*	*
<i>Asterocapsa</i> sp. 2 H.-J.Chu		*		*		*
<i>Asterocapsa</i> sp. 3 H.-J.Chu		*				*
<i>Asterocapsa</i> sp. 4 H.-J.Chu				*	*	*
<i>Asterocapsa</i> sp. 5 H.-J.Chu		*				*
<i>Asterocapsa</i> spp. H.-J.Chu	*	*	*		*	*
<i>Calothrix fusca</i> f. <i>durabilis</i> Bornet & Flahault						*
<i>Chlorogloea</i> sp. Wille		*	*	*	*	*
<i>Chroococcus</i> cf. <i>spelaeus</i> Ercegovic	*	*			*	*
<i>Chroococcus</i> cf. <i>turicensis</i> (Nägeli) Hansgirg					*	*
<i>Chroococcus cohaerens</i> (Brébisson) Nägeli		*			*	*
<i>Chroococcus ercegovicii</i> Komárek & Anagnostidis	*	*	*		*	*
<i>Chroococcus helveticus</i> Nägeli				*	*	*
<i>Chroococcus lithophilus</i> Ercegovic						*
<i>Chroococcus minor</i> (Kützing) Nägeli		*		*		*
<i>Chroococcus pallidus</i> Nägeli			*			
<i>Chroococcus spelaeus</i> Ercegovic	*	*	*	*	*	*
<i>Chroococcus turicensis</i> (Nägeli) Hansgirg				*		*
<i>Chroococcus turgidus</i> (Kützing) Nägeli	*	*	*	*	*	*
<i>Chroococcus varius</i> A. Braun			*		*	*
<i>Chroococcus</i> sp. (Kützing) Nägeli	*	*		*	*	*
<i>Chroococcidiopsis kashayi</i> Friedmann		*	*			
<i>Chroococcidiopsis</i> sp. Geitler	*	*	*	*	*	*
<i>Croatela lithophila</i> Ercegovic			*			
<i>Cyanothece aeruginosa</i> (Nägeli) Komárek	*	*	*		*	*
<i>Eucapsis</i> sp. F.E.Clements & H.L.Shantz		*	*	*	*	*
<i>Entophysalis atroviolacea</i> Novácek			*			*
<i>Geitleria calcarea</i> Friedmann						*
<i>Gloeobacter violaceus</i> Rippka, J.B.Waterbury & Cohen-Bazire	*	*	*			*
<i>Gloeocapsa alpine</i> Nägeli	*	*	*		*	*
<i>Gloeocapsa aeruginosa</i> Kützing		*	*			*
<i>Gloeocapsa atrata</i> Kützing	*	*	*	*		*
<i>Gloeocapsa biformis</i> Ercegovic	*	*	*	*	*	*
<i>Gloeocapsa</i> cf. <i>alpina</i> Nägeli	*	*		*	*	*
<i>Gloeocapsa</i> cf. <i>violacea</i> Kützing	*	*	*	*		*
<i>Gloeocapsa compacta</i> Kützing	*	*	*		*	*

<i>Gloeocapsa fusco-lutea</i> Kirchner	*
<i>Gloeocapsa haematodes</i> (Kützing) Kützing	*
<i>Gloeocapsa kuetzingiana</i> Nägeli ex Kützing	*
<i>Gloeocapsa lignicola</i> Rabenhorst	*
<i>Gloeocapsa nigrescens</i> Nägeli	*
<i>Gloeocapsa novacekii</i> Komárek & Anagnostidis	*
<i>Gloeocapsa punctata</i> Nägeli	*
<i>Gloeocapsa reicheltii</i> P.G.Richter	*
<i>Gloeocapsa rupicola</i> Kützing	*
<i>Gloeocapsa sanguine</i> (C.Agardh) Kützing	*
<i>Gloeocapsa violascea</i> Kützing	*
<i>Gloeocapsa</i> spp. Kützing	*
<i>Gloeocapsopsis</i> cf. <i>dvorakii</i> (Novácek) Komárek & Anagnostidis ex Komárek	*
<i>Gloeocapsopsis</i> cf. <i>pleurocapoides</i> (Novácek) Komárek & Anagnostidis ex Komárek	*
<i>Gloeocapsopsis</i> cf. <i>polyedrica</i> (Ercegovic) Komárek & Anagnostidis	*
<i>Gloeocapsopsis</i> sp. 1 Geitler ex Komárek	*
<i>Gloeocapsopsis</i> sp. Geitler ex Komárek	*
<i>Gloeothece abiscoensis</i> (Skuja) Komárek & Anagnostidis	*
<i>Gloeothece confluens</i> Nägeli	*
<i>Gloeothece cyanochroa</i> Komárek	*
<i>Gloeothece fusco-lutea</i> (Nägeli ex Kützing) Nägeli	*
<i>Gloeothece incerta</i> Skuja	*
<i>Gloeothece membranacea</i> (Rabenhorst) Bornet	*
<i>Gloeothece palea</i> (Kützing) Nägeli	*
<i>Gloeothece rupestris</i> (Lyngbye) Bornet	*
<i>Gloeothece subtilis</i> Skuja	*
<i>Gloeothece tepidariorum</i> (A.Braun) Lagerheim	*
<i>Gloeothece violacea</i> Rabenhorst	*
<i>Gloeothece</i> sp. Nägeli	*
<i>Hassalia byssoides</i> Kirchner	*
Heterocitina Cyanobacteria	*
<i>Kamptonema animale</i> (C.Agardh ex Gomont) Strunecký, Komárek & J.Smarda	*
Kokalna Cyanobacteria 1	*
Kokalna Cyanobacteria 2	*
Kokalna Cyanobacteria 3	*
Kokalna Cyanobacteria 4	*
<i>Leptolyngbya foveolarum</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek	*
<i>Leptolyngbya henningsii</i> (Lemmermann) Anagnostidis	*

<i>Leptolyngbya perforans</i> (Geitler) Anagnostidis & Komárek	*	*	*	*	*	*	*
<i>Leptolyngbya tenuis</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek	*						
<i>Lepolyngbya valderiana</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek			*	*	*	*	*
<i>Leptolyngbya</i> sp. 1 Anagnostidis & Komárek			*	*	*		
<i>Leptolyngbya</i> sp. 2 Anagnostidis & Komárek				*			
<i>Leptolyngbya</i> sp. 3 Anagnostidis & Komárek				*			
<i>Leptolyngbya</i> spp. Anagnostidis & Komárek	*	*	*	*	*	*	*
						+	
<i>Lyngbya</i> sp. C.Agardh ex Gomont						*	
<i>Microcoleus</i> cf. <i>vaginatus</i> Gomont ex Gomont				*			
<i>Nephrococcus serbicus</i> Popovic, Subakov Simic & Komárek	*						
<i>Nostoc commune</i> Vaucher ex Bornet & Flahault	*	*	*	*		*	*
<i>Nostoc microscopicum</i> Carmichael ex Bornet & Flahault	*	*				*	
<i>Nostoc punctiforme</i> Hariot		*	*			*	*
<i>Nostoc</i> spp. Vaucher ex Bornet & Flahault	*	*	*	*		*	*
<i>Oscillatoria</i> cf. <i>ornata</i> Kützing ex Gomont					*		
<i>Oscillatoria rupicola</i> (Hansgirg) Hansgirg ex Forti					*		
<i>Oscillatoria sancta</i> Kützing ex Gomont	*	*					
<i>Oscillatoria</i> sp. 1 Vaucher ex Gomont					*		
<i>Oscillatoria</i> sp. 2 Vaucher ex Gomont			*				
<i>Oscillatoria</i> spp. Vaucher ex Gomont						*	
<i>Phormidescmis</i> sp. Turicchia, Ventura, Komárková & Komárek			*		*	*	*
<i>Phormidium ambiguug</i> Gomont		*					
<i>Phormidium articulatum</i> (N.L.Gardner) Anagnostidis & Komárek				*			
<i>Phormidium</i> cf. <i>aeragineo caeruleum</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek				*			
<i>Phormidium</i> sp. 1 Kützing ex Gomont			*	*	*	*	*
<i>Phormidium</i> spp. Kützing ex Gomont						*	
<i>Porphyrosiphon fuscus</i> Gomont ex Frémy				*			*
<i>Pseudocapsa dubia</i> Ercegovic	*	*	*	*	*	*	*
<i>Scytonema brunneum</i> Schmidle	*	*					
<i>Scytonema</i> cf. <i>amplum</i> West & G.S.West	*						
<i>Scytonema drilosiphon</i> Elenkin & V.I.Polyansky [Polyanski]	*						
<i>Scytonema mirabile</i> Wolle	*						
<i>Scytonema myochrous</i> C.Agardh ex Bornet & Flahault	*	*				*	
<i>Scytonema varium</i> Kützing ex Bornet & Flahault		*				*	
<i>Scytonema</i> sp. 1 C.Agardh ex É.Bornet & C.Flahault	*						

<i>Scytonema</i> spp. C.Agardh ex É.Bornet & C.Flahault	*	*
<i>Symploca dubia</i> Gomont	*	
<i>Symploca muralis</i> Kützing ex Gomont		*
<i>Symploca muscorum</i> Gomont ex Gomont	*	*
<i>Synechococcus elongates</i> (Nägeli) Nägeli		*
<i>Synechocystis pevalekii</i> Ercegovic	*	*
<i>Tapinothrix bornetii</i> Sauvageau	*	*
<i>Tolypothrix</i> cf. <i>tenuis</i> Kützing ex Bornet & Flahault	*	
<i>Tolypothrix</i> spp. Kützing ex É.Bornet & C.Flahault	*	*
<i>Toxopsis calypsus</i> Lamprinou, Skaraki, Kotoulas, Economou-Amili & Pantazidou	*	
Trihalna Cyanobacteria 1		*
Trihalna Cyanobacteria 2		+
<i>Wolskyella</i> cf. <i>floridana</i> Maress & Kaštvovský	*	*
Chlorophyta		
<i>Apatococcus lobatus</i> (Chodat) J.B.Petersen	*	
<i>Chlorella</i> sp. Beyerinck [Beijerinck]	*	*
<i>Chlorococcum minutum</i> R.C. Starr		*
Chlorophyta 1		*
<i>Cladophora</i> sp. Kützing	*	
<i>Cylindrocystis brebissonii</i> f. <i>genuine</i> (Ralfs) De Bary	*	*
<i>Coccomyxa</i> cf. <i>litoralis</i> (Hansgirg) Wille	*	*
<i>Cosmarium holmiense</i> var. <i>integrum</i> P. Lundell		*
<i>Cosmarium parvulum</i> var. <i>excavatum</i> Insam & Krieger	*	*
<i>Cosmarum rectangulum</i> Reinsch	*	*
<i>Cosmarium subcrenatum</i> Hantzsch		*
<i>Cosmarium</i> sp. Corda ex Ralfs		*
<i>Gloeocystis vesiculosa</i> Nägeli	*	*
<i>Desmococcus olivaceus</i> (Persoon ex Acharius) J.R.Laundon	*	*
<i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow	*	*
<i>Klebsormidium flaccidum</i> (Kützing) P.C.Silva, K.R.Mattox & W.H.Blackwell	*	*
<i>Klebsormidium subtile</i> (Kützing) Mikhailyuk, Glaser, Holzinger & Karsten	*	*
<i>Mesotaenium caldarium</i> (Lagerheim) Hansgirg	*	
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>echinulatum</i> Wittrock	*	
<i>Phacomya</i> sp. Skuja	*	*
<i>Stichococcus bacillaris</i> Nägeli	*	*
<i>Trebouxia</i> sp. Puymaly	*	*
<i>Trentepohlia aurea</i> (Linnaeus) C.Martius		*
<i>Trochiscia granulata</i> (Reinsch) Hansgirg	*	*

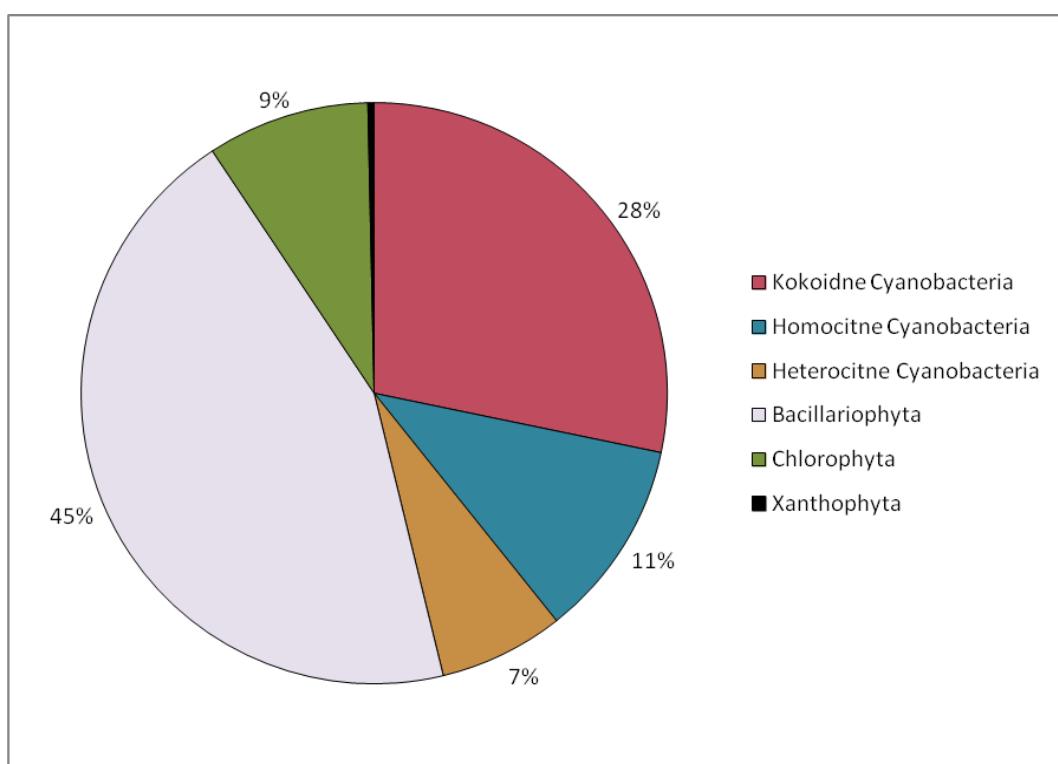
<i>Trochiscia</i> sp. Kützing	*	*	*	*	*
<i>Ulothrix</i> sp. Kützing					*
Xanthophyta					
<i>Xanthophyta</i> 1	*	*	*	*	*
					+
Bacillariophyta					
<i>Achnanthes coarctata</i> (Brébisson ex W.Smith)				*	*
Grunow					
<i>Achnanthes pseudocoarctata</i> Z.Levkov &	*			*	*
S.Tofilovska					
<i>Achnanthes sinaensis</i> (Hustedt) Z.Levkov,	*			*	*
S.Tofilovska & C.E.Wetzel					
<i>Achnanthes</i> spp. Bory	*			*	*
<i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kützing)	*	*	*	*	*
Czarnecki					
<i>Achnanthidium pyrenaicum</i> (Hustedt) H.Kobayasi	*	*	*	*	*
<i>Amphora copulata</i> (Kützing) Schoeman &					*
R.E.M.Archibald					
<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing					*
<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow		*			
<i>Amphora</i> spp. H.Willems					*
<i>Bacillariophyta</i> 1	*			*	
<i>Brachysira neglectissima</i> Lange-Bertalot					*
<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot					*
<i>Brachysira</i> spp. Kützing					*
<i>Coccconeis placentula</i> Ehrenberg					*
<i>Coccconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg)				*	*
Grunow					
<i>Coccconeis placentula</i> var. <i>lineata</i> (Ehrenberg)	*				*
Van Heurck					
<i>Coccconeis pseudolineata</i> (Geitler) Lange-Bertalot	*				*
<i>Cyclotella cretica</i> var. <i>cyclopuncta</i> (H. Hakansson & J.R.Carter) R.Schmidt					*
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing					*
<i>Cymbella affiniformis</i> Krammer					*
<i>Cymbella compacta</i> Østrup			*		*
<i>Cymbella excisiformis</i> Krammer		*			
<i>Cymbella parva</i> (W.Smith) Kirchner			*		*
<i>Cymbopleura diminuta</i> (Grunow) Krammer			*		
<i>Cymbopleura incerta</i> var. <i>grunowii</i> Krammer			*		
<i>Cymbopleura rupicola</i> var. <i>minor</i> Krammer		*	*	*	*
<i>Diatoma problematica</i> Lange - Bertalot	*	*			*
<i>Diatoma</i> spp. Bory				*	*
<i>Diploneis krammeri</i> Lange-Bertalot & E.Reichardt			*		
<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot			*		
<i>Diploneis</i> sp. Ehrenberg ex Cleve			*		

<i>Humidophila perpusilla</i> (Grunow) Lowe, Kociolek, J.R.Johansen, Van de Vijver, Lange-Bertalot & Kopalová	*	* * *
<i>Humidophila pyrenaica</i> (Lange-Bertalot & Werum) Lowe, Kociolek, Johansen, Van de Vijver, Lange-Bertalot & Kopalová	*	
<i>Humidophila</i> spp. (Lange-Bertalot & Werum) R.L.Lowe, Kociolek, J.R.Johansen, Van de Vijver, Lange-Bertalot & Kopalová	*	* *
<i>Lindavia comta</i> (Kützing) Nakov, Gullory, Julius, Theriot & Alverson	*	
<i>Luticola acidoclinata</i> Lange-Bertalot	*	
<i>Luticola andina</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	
<i>Luticola angusta</i> Solak & Levkov	*	
<i>Luticola cf. similis</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	
<i>Luticola cf. ventricosa</i> (Kützing) D.G.Mann	*	
<i>Luticola dismutica</i> (Hustedt) D.G.Mann	*	
<i>Luticola frequentissima</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	* * *
<i>Luticola imbricata</i> (Bock) Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	
<i>Luticola kopanjae</i> Levkov, A.Pavlov & Cvetkoska	*	*
<i>Luticola nivalis</i> (Ehrenberg) D.G.Mann	*	* *
<i>Luticola nivaloides</i> (W.Bock) Denys & De Smet	*	
<i>Luticola poulickovae</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	
<i>Luticola quineuenodis</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	* * * * * *
<i>Luticola triundulata</i> Levkov, Metzeltin & A.Pavlov	*	* *
<i>Luticola ventricosa</i> (Kützing) D.G.Mann	*	
<i>Luticola</i> sp. 1 D.G.Mann	*	
<i>Luticola</i> spp. D.G.Mann	*	* * * * * *
<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing	*	
<i>Navicula exilis</i> Kützing	*	
<i>Navicula libonensis</i> Schoeman	*	
<i>Navicula lundi</i> E.Reichardt	*	
<i>Navicula tenelloides</i> Hustedt	*	
<i>Navicula tripunctata</i> (O.F.Müller) Bory	*	* *
<i>Navicula</i> spp. Bory	*	* * *
<i>Neidium minutissimum</i> Krasske	*	
<i>Nitzschia acidoclinata</i> Lange-Bertalot	*	*
<i>Nitzschia alpina</i> Hustedt	*	
<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow	*	*
<i>Nitzschia aurarie</i> Cholnoky	*	
<i>Nitzschia terrestris</i> (J.B.Petersen) Hustedt	*	
<i>Nitzschia communis</i> Rabenhorst	*	

<i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Rabenhorst	*	*	*	*											
<i>Nitzschia dissipata</i> var. <i>media</i> (Hantzsch) Grunow			*												
<i>Nitzschia linearis</i> W. Smith		*													
<i>Nitzschia oligotrapentha</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot		*													
<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	*	*													
<i>Nitzschia pusilla</i> Grunow	*	*													
<i>Nitzschia</i> spp. Hassall		*	*	*											
<i>Orthoseira dendroteres</i> (Ehrenberg) Genkal & Kulikovskiy	*	*	*	*											
<i>Orthoseira roseana</i> (Rabenhorst) Pfitzer	*	*	*	*											
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	*		*												
<i>Pinnularia borealis</i> Ehrenberg	*	*	*	*											
<i>Pinnularia intermedia</i> (Lagerstedt) Cleve		*		*											
<i>Pinnularia rabenhorstii</i> Hilse			*												
<i>Pinnularia rabenhorstii</i> var. <i>franconica</i> Krammer			*												
<i>Pinnularia subrabenhorstii</i> Krammer			*	*											
<i>Pinnularia</i> spp. Ehrenberg	*	*	*	*											
<i>Planothidium frequentissimum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	*		*	*											
<i>Planothidium lanceolatum</i> (Brébisson ex Kützing) Lange-Bertalot		*		*											
<i>Psammothidium marginulatum</i> (Grunow) Bukhtiyarova & Round			*	*											
<i>Sellaphora joubaudii</i> (H.Germain) Aboal		*													
<i>Simonsenia delognei</i> (Grunow) Lange-Bertalot		*													
<i>Stauroneis separanda</i> Lange-Bertalot & Werum		*													
<i>Stauroneis tackei</i> (Hustedt) Krammer & Lange-Bertalot			*												
<i>Stauroneis thermicola</i> (J.B.Petersen) J.W.G.Lund		*													
<i>Stephanodiscus</i> sp. Ehrenberg		*													
<i>Surirella angusta</i> Kützing		*													
<i>Surirella terricola</i> Lange-Bertalot & E.Alles		*													
<i>Surirella</i> sp. Turpin		*													
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.Agardh) D.M.Williams & Round	*														
Ukupno	54	45	54	80	91	65	7	64	46	73	141	61	68	60	14

Razdeo Cyanobacteria se izdvaja kao razdeo sa najvećim brojem zabeleženih taksona (134 taksona), a prati ga razdeo Bacillariophyta u kome je zabeleženo skoro podjednako taksona, odnosno 129. Broj taksona je znatno manji u razdelu Chlorophyta

(26), dok je za razdeo Xanthophyta identifikovan samo jedan predstavnik. Procentualna zastupljenost razdela cijanobakterija i algi po broju taksona koji su zabeleženi u svim uzorcima biofilma predstavljena je na Grafiku 9. Razdeo Cyanobacteria podeljen je na tri grupe – kokoidne, homocitne (jednostavne trihalne forme) i heterocitne Cyanobacteria. Homocitni trihom sadrži identične vegetativne ćelije, a heterocitni tip talusa sadrži i specijalizovane ćelije kao što su spore (akineti) i heterociste (Blaženčić 1998). Najveći broj predstavnika cijanobakterija spada u grupu kokoidnih cijanobakterija (82 taksona), dok su homocitne i heterocitne forme predstavljene znatno manjim brojem taksona, 32 i 20 taksona, respektivno.



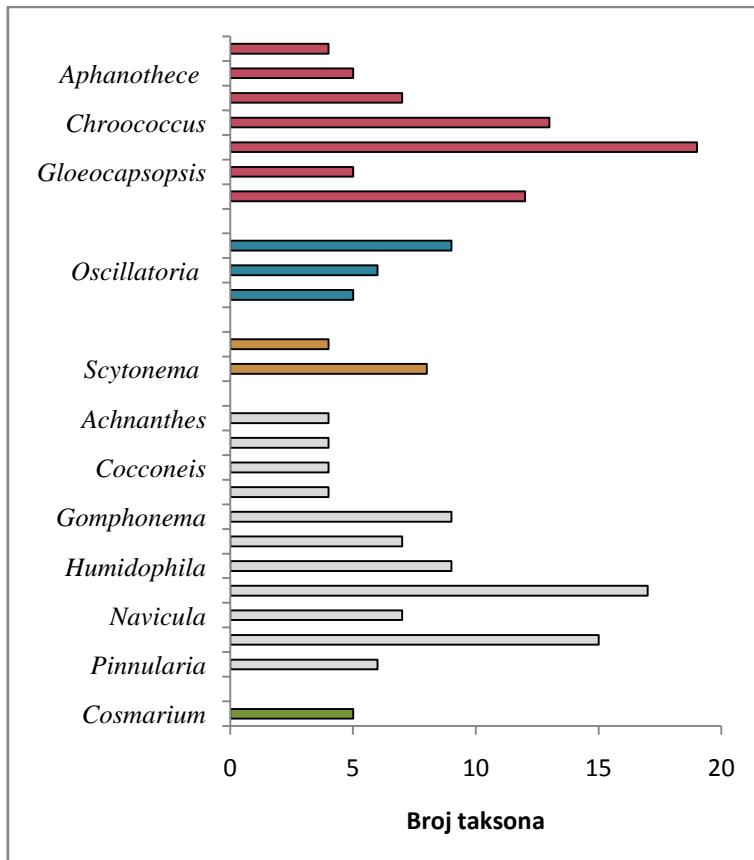
Grafik 9. Procentualna zastupljenost grupa cijanobakterija i raz dela algi po broju zabeleženih taksona u svim uzorcima biofilma. Razdeo Cyanobacteria predstavljen je kroz tri grupe (kokoidne, homocitne i heterocitne Cyanobacteria).

Sličan trend broja i odnosa taksona kod ova četiri raz dela pokazuje i broj identifikovanih rodova: ukupno je zabeleženo po 37 identifikovanih rodova u razdelima Cyanobacteria i Bacillariophyta i 19 u razdelu Chlorophyta. Veliki broj rodova predstavljen je samo jednim taksonom, a postoje rodovi koji su po broju zabeleženih

taksona dominantni u zajednici aerofitskih algi. Posmatrajući razdeo Cyanobacteria, najviše taksona zabeleženo je u rodovima *Gloeocapsa*, *Chroococcus* i *Gloeothece* (Grafik 10), koji su predstavnici grupe kokoidnih Cyanobacteria. Rod *Leptolyngbya* se izdvojio kao najraznovrsniji rod homocitnih, a rod *Scytonema* kao dominantan predstavnik heterocitnih Cyanobacteria. Najveći broj taksona kod razdela Bacillariophyta zabeležen je u okviru rođova *Luticola*, *Nitzschia*, *Humidophila* i *Gomphonema*, dok se kod razdela Chlorophyta izdvojio rod *Cosmarium*. Na Grafiku 10 prikazani su svi rodovi zajednice aerofitskih algi koji pripadaju identifikovanim razdelima, a koji sadrže više od 3 zabeležena taksona.

Kokoidne cijanobakterije su retko kad zabeležene u samo jednoj pećini, kao što je to slučaj sa većinom predstavnika iz svih ostalih grupa. Veliki broj taksona kokalnih cijanobakterija nađen je u više od pet pećina, pri čemu izdvajamo sledeće: *Aphanocapsa fusco-lutea* (9), *A. muscicola* (15), *Aphanothece saxicola* (9), *Asterocapsa* cf. *purpurea* (6), *Chlorogloea* sp. (9), *Chroococcus ercegovicii* (7), *C. spelaeus* (8), *C. turgidus* (8), *Chroococcidiopsis* sp. (8), *Gloeobacter violaceus* (6), *Gloeocapsa atrata* (7), *G. biformis* (10), *G. kuetzingiana* (7), *G. nigrescens* (8), *G. punctata* (8), *G. reicheltii* (6), *G. violacea* (7), *Gloeocapsopsis* cf. *polyedrica* (7), *Gloeothece fusco-lutea* (6), *G. rupestris* (9), *Eucapsis* sp. (8) i *Pseudocapsa dubia* (9). Posebno se izdvaja *A. muscicola* koja je zabeležena u svih 15 pećina. Samo nekoliko homocitnih cijanobakterija zabeleženo je u četiri i više pećina: *Leptolyngbya foveolarum* (12), *L. perforans* (7), *L. valderiana* (5), *Phormidesmis* sp. (4) *Phormidium* sp. 1 (5) i *Wolskyella* cf. *floridana* (6). Kod heterocitnih predstavnika izdvajaju se predstavnici roda *Nostoc* i *Tolypothrix*, pri čemu je *Nostoc commune* dokumentovan u sedam, a *N. punctiforme* u pet pećina.

Desmococcus olivaceus je najčešće identifikovana zelena alga, zabeležena u čak 13 pećina. Pored nje, češće od ostalih predstavnika, dokumentovane su *Coccomyxa* cf. *litoralis* (5), *Gloeocystis vesiculosa* (5), *Klebsormidium flaccidum* (5), *Stichococcus bacillaris* (4), *Trochiscia granulata* (4) i *Trochiscia* sp. (5).



Grafik 10. Rodovi cijanobakterija i algi koji sadrže više od tri taksona: ljubičasto – kokoidne Cyanobacteria, plavo – homocitne Cyanobacteria, braon – heterocitne Cyanobacteria, sivo – Bacillariophyta, zeleno – Chlorophyta.

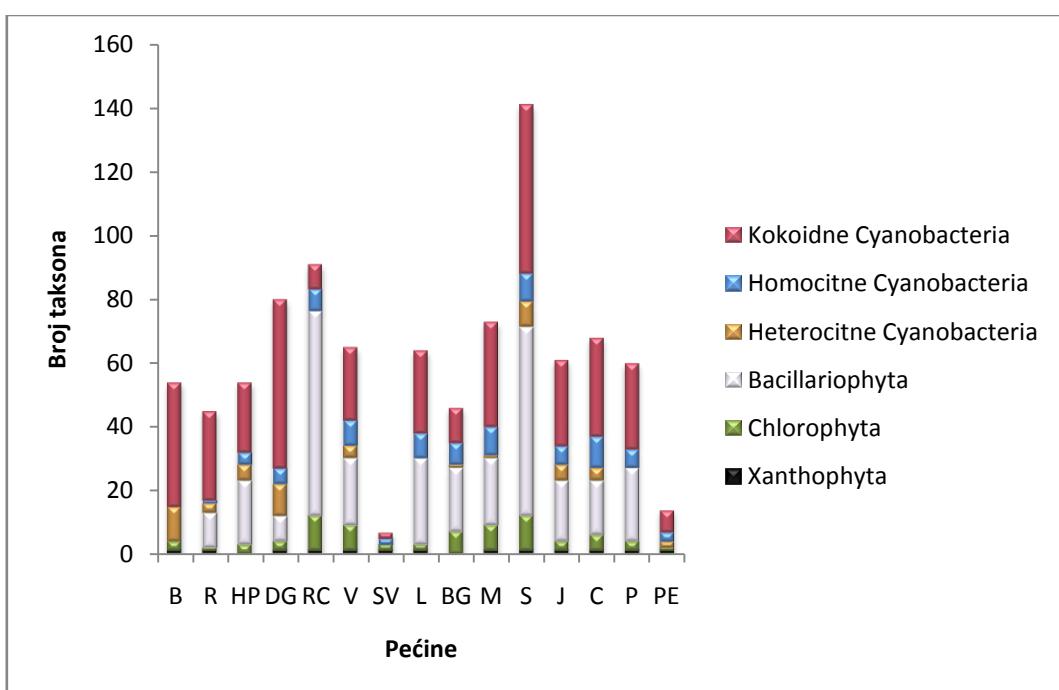
Neidentifikovani predstavnik razdela Xanthophyta takođe je bio veoma rasprostranjen i zabeležen je u 13 pećina.

Što se silikatnih algi tiče, u najviše pećina zabeležene su *Achnanthidium minutissimum* (6), *A. pyrenaicum* (6), *Cymbopleura rupicola* var. *minor* (6), *Encyonopsis subminuta* (5), *Fallacia insociabilis* (6), *Gomphonema micropus* (5), *Hantzschia abundans* (7), *Humidophila aerophila* (9), *H. biceps* (7), *H. brekkaensoides* (5), *H. contemnata* (5), *H. contenta* (11), *H. paracontenta* (8), *Luticola nivalis* (5), *L. quinquenodis* (7), *Orthoseira dendroteres* (9), *O. roseana* (10) i *Pinnularia borealis* (8). Kao što se primećuje, po zastupljenosti se izdvajaju rodovi *Humidophila*, *Luticola*, *Orthoseira* i *Pinnularia*.

Grafik 11 pokazuje broj zabeleženih taksona svih grupa Cyanobacteria i ostalih razdela u zajednici aerofitskih algi u svim pećinama. Najveći broj taksona zabeležen je

u pećini Samar (141 takson), dok je najmanji broj taksona zabeležen u pećini kod Sove (7 taksona). Sa većim brojem zabeleženih taksona izdvajaju se još i Rćanska pećina, Degurička pećina i Mandina pećina. Broj zabeleženih taksona kod ostalih pećina je manje-više ujednačen i kod većine se kreće u rasponu od 50 - 70 taksona po pećini.

Cyanobacteria po broju taksona dominiraju u odnosu na druge razdele u svim pećinama, osim Rćanske i Bogovinske pećine. Po broju taksona Cyanobacteria izdvajaju se Božanina pećina, Degurička pećina i pećina Samar. Kokoidne forme su svakako dominantne i njih takođe najviše ima u ove tri pomenute pećine. Najviše homocitnih Cyanobacteria zabeleženo je u Cerjanskoj pećini i pećini Samar, ali nijedan predstavnik nije zabeležen u Božaninoj pećini. Sa druge strane, najviše taksona heterocitnih Cyanobacteria bilo je u Božaninoj pećini, a zatim u Deguričkoj. Bacillariophyta su u najvećem broju nađene u Rćanskoj pećini i pećini Samar, gde su takođe bili najbrojniji i predstavnici razdela Chlorophyta (Grafik 11).

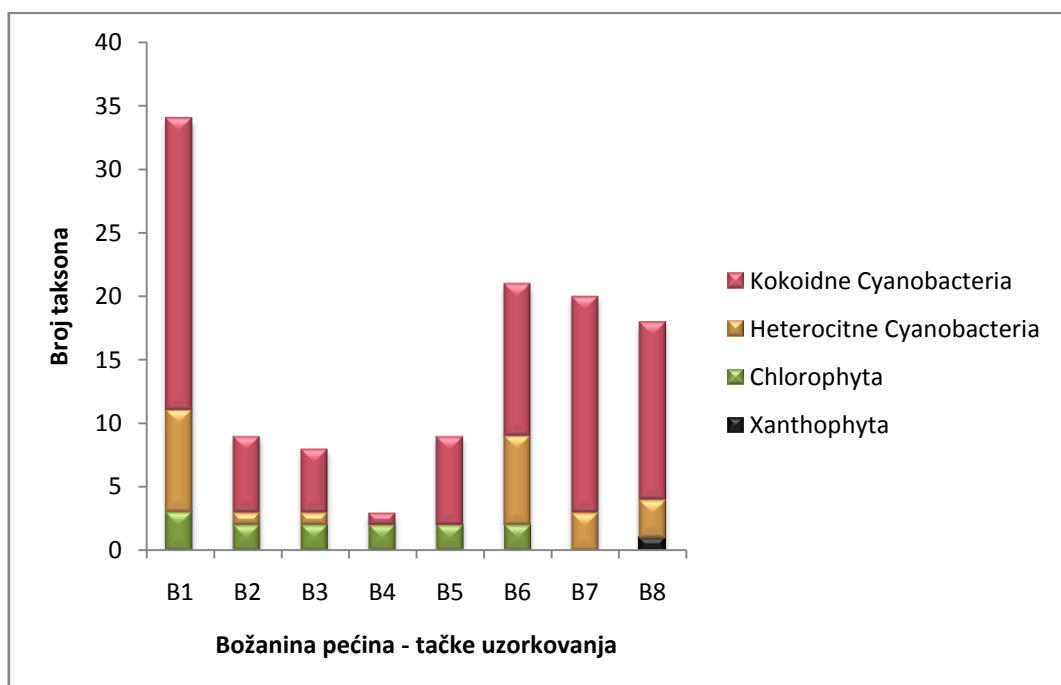


Grafik 11. Broj zabeleženih taksona svih grupa Cyanobacteria i ostalih razdela u zajednici aerofitskih algi na svim lokalitetima (B – Božanina pećina, R – Ribnička pećina, HP – Hadži Prodanova pećina, D – Degurička pećina, RC – Rćanska pećina, V – Vernjikica, SV – Pećina kod Sove, L – Lazareva pećina, BG – Bogovinska pećina, M – Mandina pećina, S – pećina Samar, J – Jezava, C – Cerjanska pećina, vrelo kod

Kravlja, P – Prekonoška pećina (obuhvaćena dva ulaza, donji i gornji), PE – Petnička pećina).

4.5.1. Božanina pećina

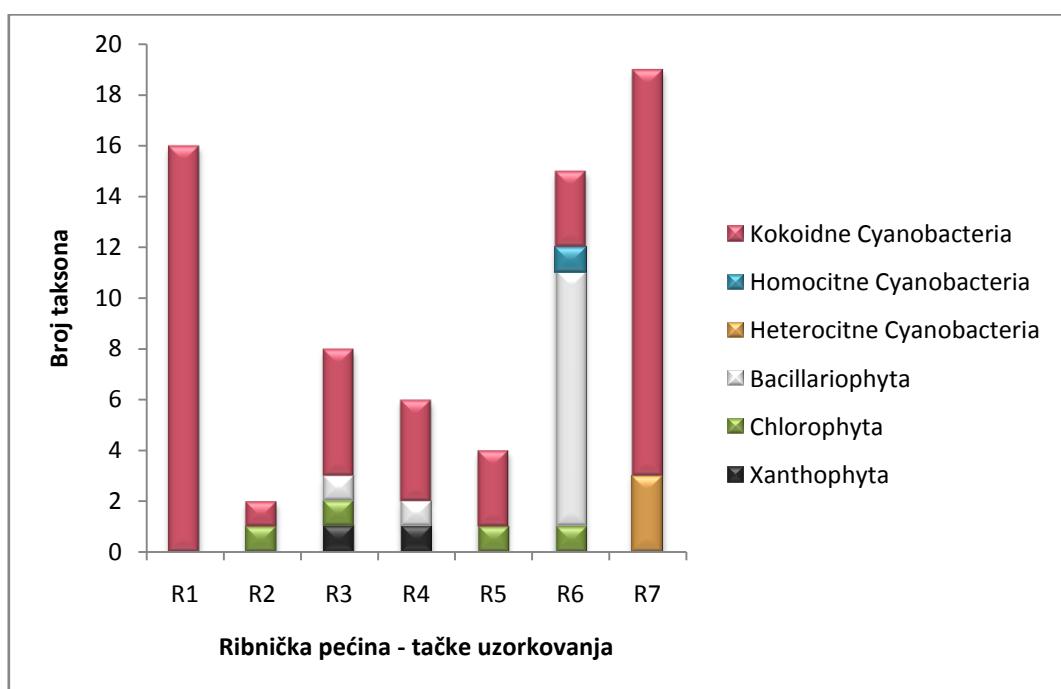
U Božaninoj pećini (Grafik 12) zabeleženo je ukupno 56 taksona u tri razdela: Cyanobacteria, Chlorophyta i Xanthophyta. Najviše taksona zabeleženo je na tački B1, a najmanje na tački B4. U razdelu Cyanobacteria zabeležen je najveći broj taksona (50), od čega najveći procenat pripada kokoidnim, a znatno manji heterocitnim cijanobakterijama. Interesantno je da predstavnici homocitnih formi u ovoj pećini nisu zabeleženi. Rod *Gloeocapsa* je bio najraznovrsniji (14 taksona), a slede ga rodovi *Gloeothece* i *Scytonema* (po 7 taksona). Na najviše tačaka uzorkovanja (šest) javile su se cijanobakterije *Chroococcus ercegovicii*, *Gloeocapsa compacta* i zelena alga *Desmococcus olivaceus*. Taksoni koji su zabeleženi samo u ovoj pećini su: *Gloeocapsa rupicola*, *Gloeocapsopsis cf. dvorakii*, *Gloeothece cyanochroa*, novoopisana vrsta *Nephrococcus serbicus* i predstavnici roda *Scytonema* (*S. cf. amplum*, *S. drilosiphon*, *S. mirabile* i *Scytonema* sp. 1).



Grafik 12. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (B1 – B8) u Božaninoj pećini.

4.5.2. Ribnička pećina

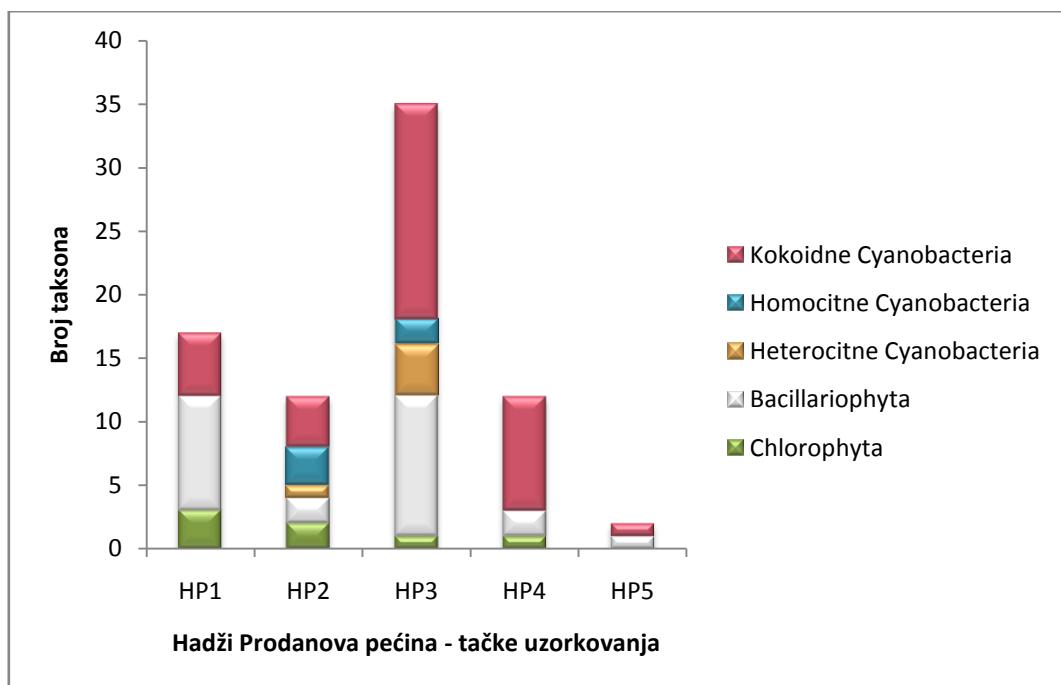
Ukupno 45 taksona svrstanih u četiri razdela (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta) zabeleženo je u Ribničkoj pećini (Grafik 13). Najviše taksona zabeleženo je na tačkama R1, R6 i R7, a najmanje na tački uzorkovanja R2. Razdeo Cyanobacteria i ovde ubedljivo dominira, a najbrojnije su kokoidne forme, koje su jedini identifikovani taksoni na tački R1. *Leptolyngbya foveolarum* je jedini predstavnik homocitnih cijanobakterija, dok su heterocitne zastupljene sa tri taksona koji su zabeležena samo na tački R7. Najraznovrsniji rod je ubedljivo *Gloeocapsa* sa 11 zabeleženih taksona, a prati ga rod *Chroococcus*. Na najviše tačaka uzorkovanja zabeležene su cijanobakterije *Chroococcus ercegovicii* (6) i *Asterocapsa* sp. (4) i zelena alga *Desmococcus olivaceus* (4). Predstavnici razdela Bacillariophyta (uglavnom rodovi *Humidophila* i *Nitzschia*) su zabeleženi u uzorku R6, dok ih u drugim uzorcima skoro uopšte nije bilo. U taksone koji su zabeleženi samo u ovoj pećini spadaju: *Gloeocapsa fusco-lutea*, kokalna Cyanobacteria 1 i *Nitzschia communis*.



Grafik 13. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (R1 – R7) u Ribničkoj pećini.

4.5.3. Hadži Prodanova pećina

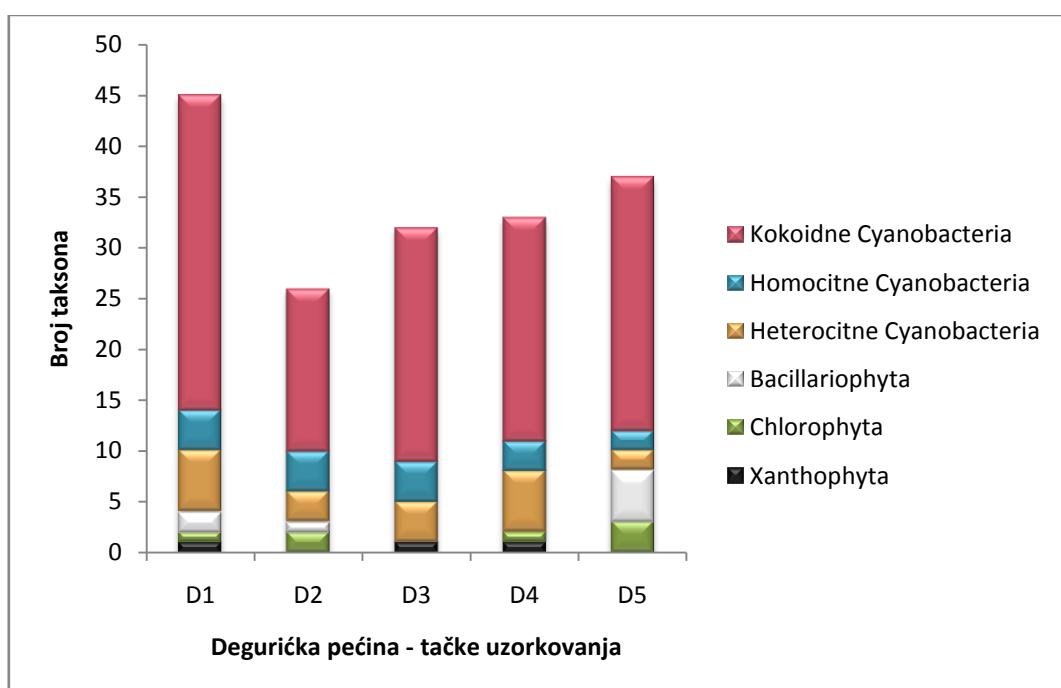
U Hadži Prodanovoj pećini (Grafik 14), Cyanobacteria, Bacillariophyta i Chlorophyta predstavljeni su sa ukupno 54 taksona, od kojih je najveći broj zabeležen na tački HP3, a najmanji na tački HP5 gde je zabeležen *Chroococcidiopsis kashayi*. Dominacija Cyanobacteria, pre svega kokoidnih formi, kao i veliki diverzitet u rodu *Gloeocapsa* i ovde je slučaj, ali se takođe zapaža i veliki diverzitet Bacillariophyta koje su svrstane u više rodova, među kojima se izdvajaju *Luticola*, *Humidophila* i *Gomphonema*. Na najviše tačaka uzorkovanja zabeležene su cijanobakterije *Pseudocapsa dubia* (4), *Aphanocapsa parietina* (3) i *Gloeocapsa biformis* (3) i zelene alge *Desmococcus olivaceus* (3) i *Trochiscia granulata* (3). *Oscillatoria* sp. 2, *Phormidium ambiguum*, *Toxopsis calypsus*, *Cymbella excisiformis*, *Gomphonema cf. tergestinum*, *Luticola acidoclinata* i *Tabelaria fasciculata* predstavljaju taksone zabeležene samo u ovoj pećini.



Grafik 14. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (HP1 – HP5) u Hadži Prodanovoj pećini.

4.5.4. Degurićka pećina

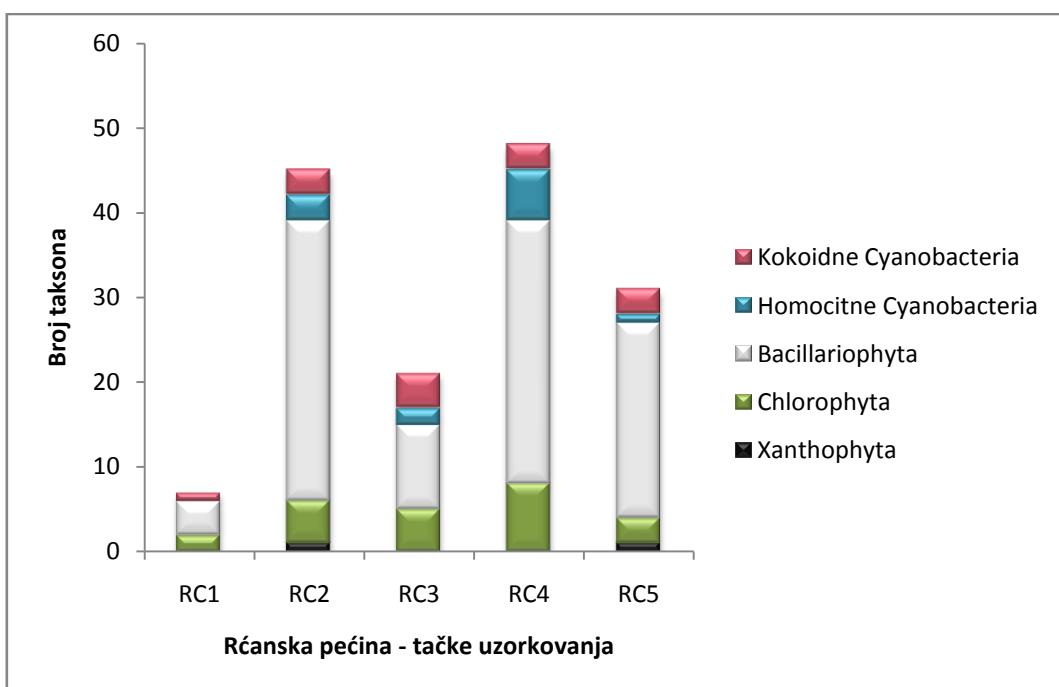
Pored dominantnih Cyanobacteria, pre svega kokoidnih formi (53 taksona), u Degurićkoj pećini su zabeleženi i predstavnici ostala tri razdela, pri čemu ukupan broj zabeleženih taksona iznosi 80 (Grafik 15). Najveći broj taksona zabeležen je na tački DG1, ali se i ostale tačke uzorkovanja karakterišu visokim diverzitetom pre svega kokoidnih formi cijanobakterija. Rodovi u kojima je zabeležen najveći broj taksona su *Gloeocapsa* (16 taksona), *Chroococcus* (9 taksona) i *Asterocapsa* (6 taksona). Na najviše tačaka uzorkovanja (5) zabeležene su cijanobakterije *Asterocapsa cf. purpurea*, *Gloeocapsa atrata*, *Pseudocapsa dubia* i *Leptolyngbya foveolarum*. Taksoni koji su zabeleženi samo u biofilmu iz ove pećine su: *Chroococcus pallidus*, *Croatella lithophila*, *Leptolyngbya tenuis*, *Symploca dubia*, *Tolypothrix cf. tenuis* i *Lindavia compta*.



Grafik 15. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (D1 – D5) u Degurićkoj pećini.

4.5.5. Rćanska pećina

Ukupno 91 takson, svrstan u razdelle Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta, zabeležen je u Rćanskoj pećini (Grafik 16).



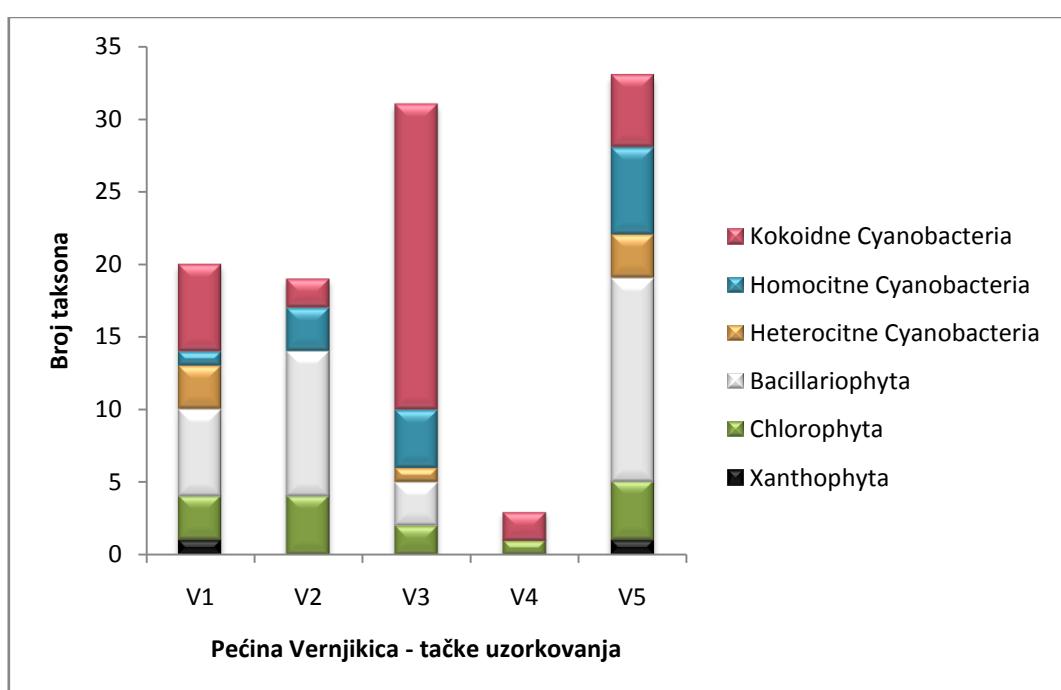
Grafik 16. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (RC1 – RC5) u Rćanskoj pećini.

Najveći broj taksona zabeležen je u razdelu Bacillariophyta (64 taksona), dok je broj taksona u ostalim razdelima znatno manji. Ovo je pećina koja se karakteriše najmanjim diverzitetom Cyanobacteria, svega 15 taksona, koji pripadaju kokoidnim i homocitnim cijanobakterijama, dok heterocitne uopšte nisu zabeležene. U razdelu Chlorophyta zabeleženo je 11 taksona. Najviše taksona zabeleženo je na tačkama uzorkovanja RC2 i RC4. Najraznovrsniji rodovi su *Nitzschia* (11), *Luticola* i *Navicula* (po 6 taksona). Na najviše mesta uzorkovanja (4) zabeležene su cijanobakterija *Aphanocapsa muscicola* i zelena alga *Klebsormidium flaccidum*. Veliki broj taksona, koji pre svega pripadaju razdelu Bacillariophyta, zabeleženo je samo u ovoj pećini: *Appatococcus lobatus*, *Mesotaenium caldariorum*, *Pediastrum simplex* var. *echinulatum*, *Amphora pediculus*, *Cymbopleura diminuta*, *C. incerta* var. *grunowii*, svi predstavnici roda *Diploneis*, *Geissleria paludosa*, *Gomphonema productum*, *Grunowia*

solgensis, *Hantzschia hyperborea*, *H. virgata*, *Luticola imbricata*, *Navicula cryptocephala*, *N. exilis*, *N. libonensis*, *N. lundi*, *N. tenelloides*, *Nitzschia alpina*, *N. aurarie*, *N. terrestris*, *N. linearis*, *N. oligotrapentha*, *Selaphora joubaudii*, *Simonsenia delognei*, *Stauroneis separanda*, *Stauroneis thermicola* i svi predstavnici roda *Surirella*.

4.5.6. Pećina Vernjikica

Raznolika zajednica aerofitskih algi koju čini 35 taksona razdela Cyanobacteria, 8 taksona razdela Chlorophyta, 21 takson razdela Bacillariophyta i jedan takson razdela Xanthophyta zabeležena je u pećini Vernjikica. Najviše taksona zabeleženo je na tačkama V3 i V5, na kojima je ujedno bilo prisutno i najviše predstavnika različitih grupa i razdela, dok je na tački V4 zabeleženo samo tri taksona koji pripadaju razdelima Cyanobacteria i Chlorophyta (Grafik 17).



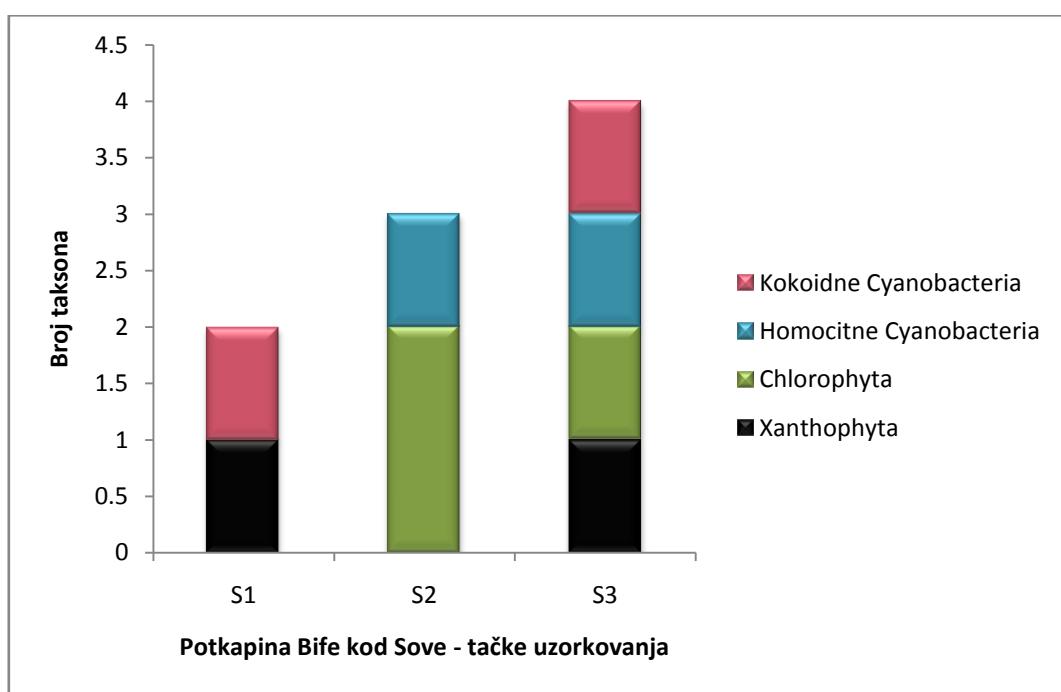
Grafik 17. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (V1 – V5) u pećini Vernjikica.

Gloeocapsa, *Leptolyngbya*, *Nostoc*, *Humidophila* i *Luticola* su dominantni rodovi. Predstavnik razdela Cyanobacteria, *Chroococcidiopsis* sp. i zelena alga *Desmococcus olivaceus* nađeni su na najviše tačaka uzorkovanja (5). *Phormidium* cf.

aerugineo coeruleum, *Cladophora* sp., *Luticola* cf. *ventricosa*, *Luticola dismutica* i *Stephanodiscus* sp. su taksoni zabeleženi samo u ovoj pećini.

4.5.7. Pećina kod Sove

Pećina kod Sove odlikuje se malim diverzitetom aerofitskih algi, jer je zabeleženo svega sedam taksona (Grafik 18). I pored toga, zabeleženi su predstavnici tri razdela (Cyanobacteria (kokoidne i homocitne forme), Chlorophyta i Xanthophyta) i jedino su na tački S3 dokumentovani predstavnici svih grupa. *Phormidium articulatum* predstavlja takson zabeležen samo u ovoj pećini.

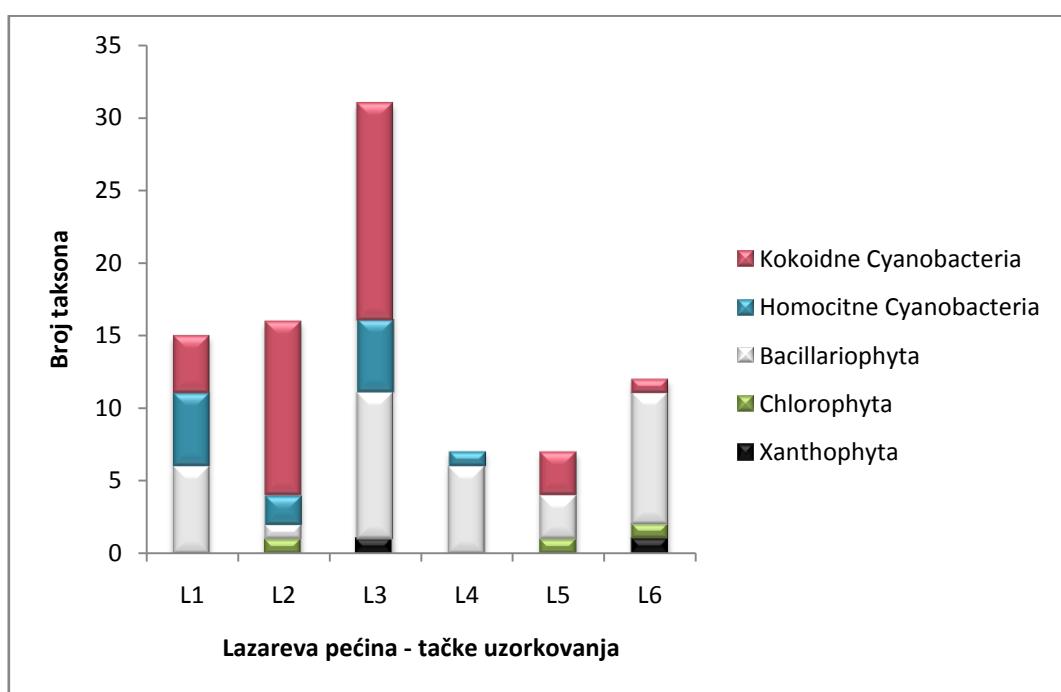


Grafik 18. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (S1 – S3) u pećini kod Sove.

4.5.8. Lazareva pećina

Lazarevu pećinu, gde je zabeleženo ukupno 64 taksona, karakteriše skoro podjednak broj taksona u razdelima Cyanobacteria (34 – predstavljene samo kokoidnim i homocitnim formama) i Bacillariophyta (27). Ostali razdeli se uopšte ne ističu po broju taksona. Na tački L3 zabeležen je najveći broj taksona, a najmanji na tačkama L4-

L6 koje se nalaze u unutrašnjosti pećine (Grafik 19). Dominantni rodovi su *Chroococcus*, *Gloeocapsa* (zabeleženo po 7 taksona) i *Humidophila* (6 taksona). *Chroococcus ercegovicii*, *Leptolyngbya* sp. i *Achnanthidium minutissimum* zabeleženi su na najviše tačaka uzorkovanja (3). I ovde se može izdvojiti nekoliko taksona koji su specifični za ovu pećinu: *Microcoleus* cf. *vaginatus*, *Oscillatoria* sp. 1, trihalna Cyanobacteria 1, *Brachysira neglectissima*, *Cyclotella cretica* var. *cyclopuncta* i *Neidium minutissimum*.

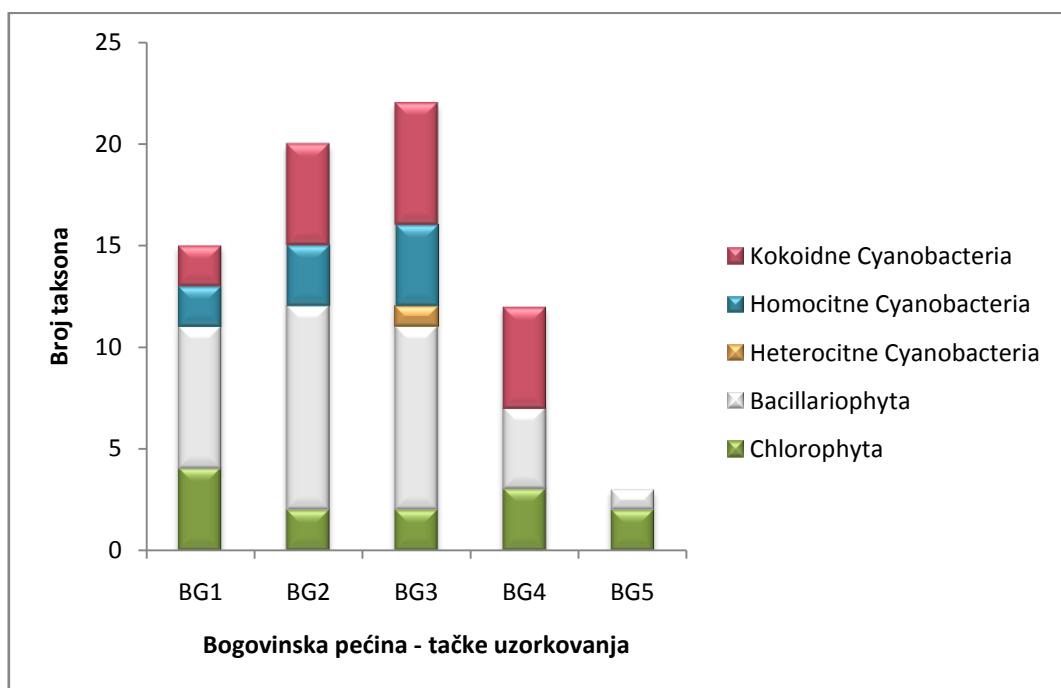


Grafik 19. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (L1 – L6) u Lazarevoj pećini.

4.5.9. Bogovinska pećina

U Bogovinskoj pećini, od ukupno 46 zabeleženih taksona, najviše pripada razdelu Bacillariophyta (20 taksona), a prati ga razdeo Cyanobacteria (19 taksona, od kojih je 11 kokoidnih, Grafik 20). Najveći diveritet zabeleženih taksona je na tački BG3, na kojoj je zabeležen i jedini predstavnik heterocitnih Cyanobacteria. *Luticola* i *Leptolyngbya* predstavljaju dominantne rodove na ovom lokalitetu. Pećina je specifična po tome što se, za razliku od drugih, na najviše tačaka uzorkovanja javljaju predstavnici razdela Bacillariophyta – *Humidophila aerophila* i *Orthoseira roseana* (na 4 tačke).

Homocitne cijanobakterije *Leptolyngbya* sp. 3, *Oscillatoria* cf. *ornata* i *Symploca muralis* i silikatne alge *Brachysira neoxelis*, *Fragilaria recapitellata*, *Pinnularia rabenhorstii* var. *franconica* su jedino zabeležene u ovoj pećini.

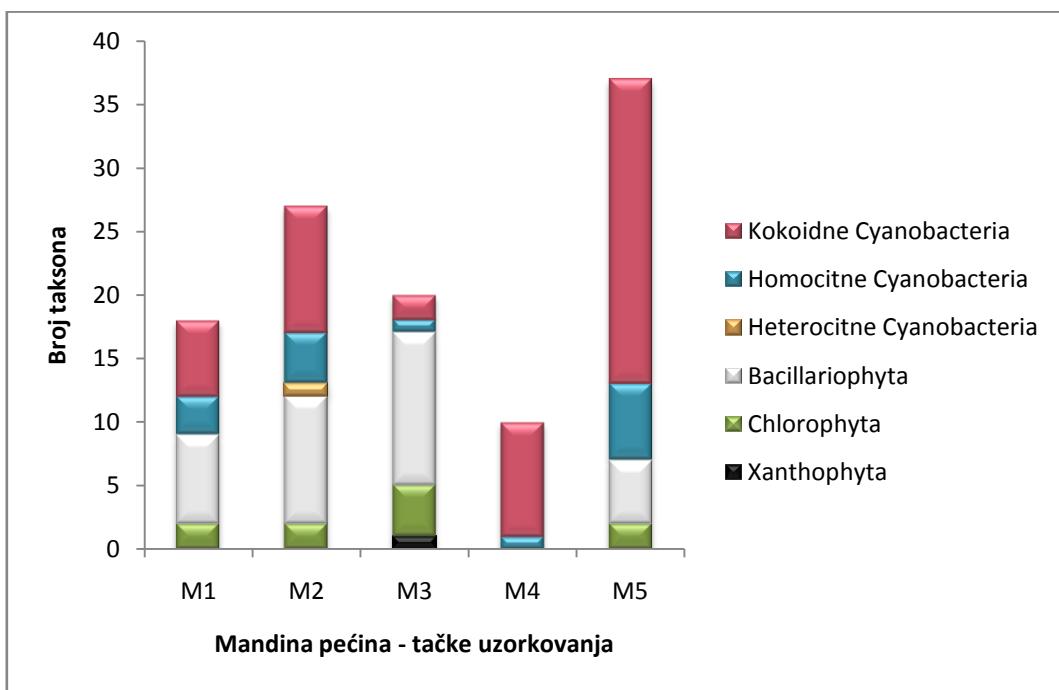


Grafik 20. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (BG1 – BG5) u Bogovinskoj pećini.

4.5.10. Mandina pećina

Ukupno 73 taksona, iz četiri dokumentovana razdela, zabeleženo je u Mandinoj pećini. Razdeo Cyanobacteria, sa 33 kokoidne, 9 trihalnih i jednom heterocitnom formom, dominira u zajednici aerofitskih algi u ovoj pećini. Prati ga razdeo Bacillariophyta sa 21 identifikovanim taksonom, a sledi razdeo Chlorophyta sa 8 zabeleženih taksona. Najveći broj taksona zabeležen je na tačkama M2 i M5, a najmanji broj na tački M4 (Grafik 21), gde su prisutni predstavnici samo dva razdela. Po broju taksona dominiraju rodovi *Asterocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeocapsa* i *Leptolyngbya*, dok su na najviše tačaka uzorkovanja (4) zabeleženi *Aphanocapsa muscicola*, *Pseudocapsa dubia*, *Leptolyngbya foveolarum* i *Humidophila aerophila*. *Gloeocapsopsis* cf. *pleurocapsoides*, kokalna Cyanobacteria 4, *Leptolyngbya* sp. 2, *Oscillatoria rupicola*, *Cosmarium holmiense* var. *integrum*, *Amphora ovalis*, *Cyclotella meneghiniana*,

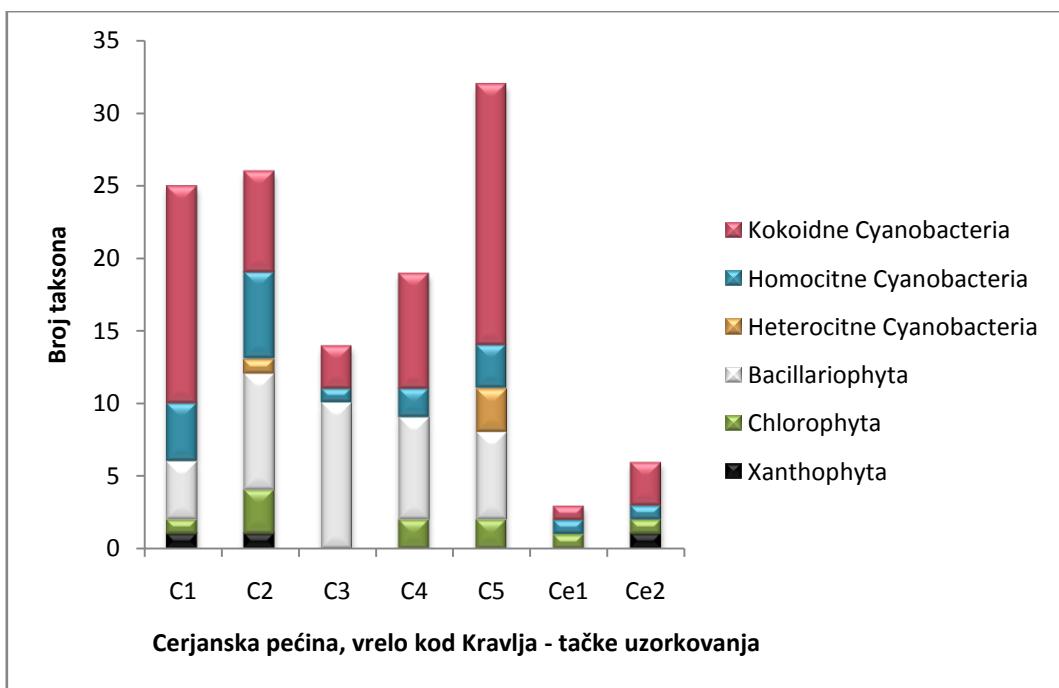
Gomphonema cymbeliclinum i *Stauroneis tacei* su taksoni koji su zabeleženi samo u ovoj pećini.



Grafik 21. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (M1 – M5) u Mandinoj pećini

4.5.11. Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravlja

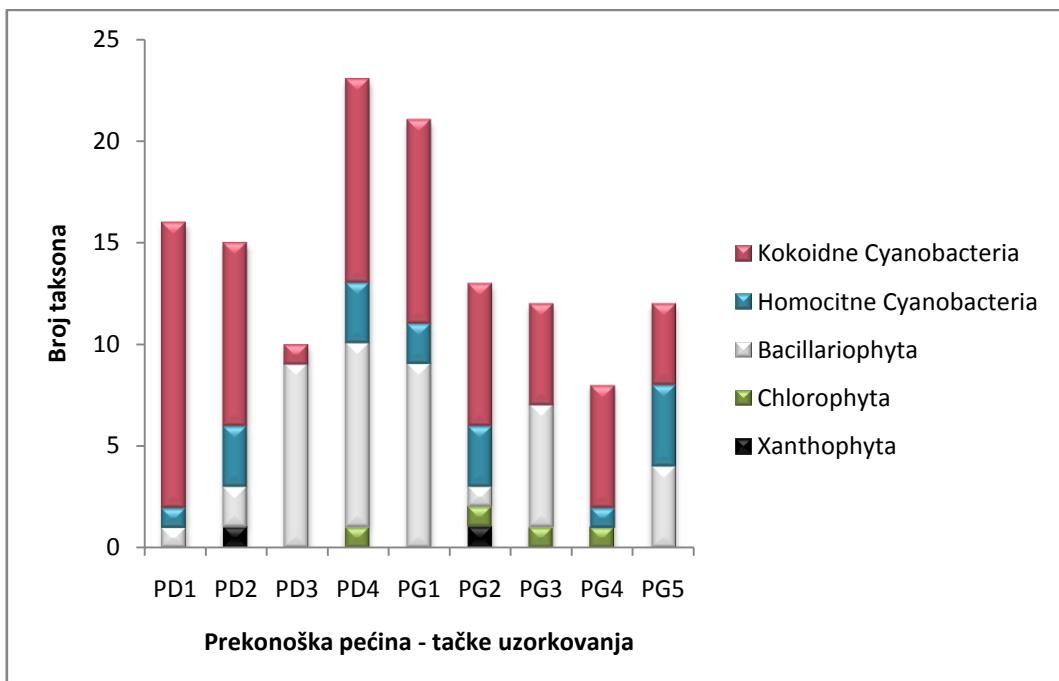
U Cerjanskoj pećini ukupno je zabeleženo 67 taksona cijanobakterija i algi iz uzorka biofilma (C1 – C5) i 7 taksona endolitskih cijanobakterija i algi (Ce1 – Ce2), pri čemu je 6 taksona zajedničko za ove dve zajednice. U zajednici endolitskih algi zabeležen je znatno manji broj taksona i bilo ih je moguće identifikovati uglavnom do nivoa roda. Najveći broj taksona zabeležen je na tački C5 (Grafik 22). Dominantan razdeo Cyanobacteria (45 taksona) i ovde pokazuje veliki diverzitet kokoidnih formi, uz dominaciju rodova *Aphanocapsa*, *Gloeocapsa* i *Gloeothecae*. Rod *Leptolyngbya* dominira kod trihalnih predstavnika. Kao što je to slučaj i u mnogim drugim pećinama rod *Humidophila* se ističe u razdelu Bacillariophyta, koji broji 17 taksona. *Humidophila contenta*, zajedno sa taksonom *Orthoseira roseana*, bile su prisutne u biofilmu na svih pet tačaka uzorkovanja. Nekoliko taksona je takođe jedinstveno za ovu pećinu: *Lyngbya* sp., *Oscillatoria* sp., *Phormidium* sp. i *Ulothrix* sp.



Grafik 22. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (C1 – C5, Ce1 – Ce2) u Vrelu kod Kravlja – Cerjanska pećina.

4.5.12. Prekonoška pećina

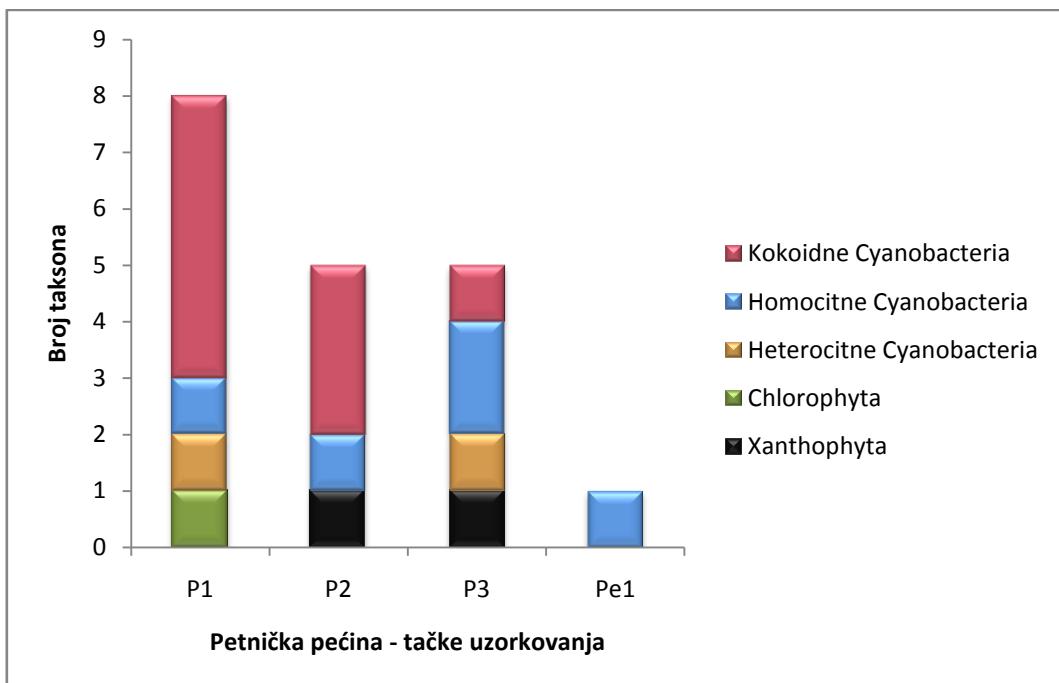
U Prekonoškoj pećini zabeleženo je ukupno 60 taksona, gde dominira razdeo Cyanobacteria, a sledi ga razdeo Bacillariophyta. Razdeli Chlorophyta i Xanthophyta se po broju taksona ne ističu. U razdelu Cyanobacteria dominiraju kokoidne forme, dok heterocitni predstavnici nisu zabeleženi. Kao što se zapaža na Grafiku 23, veći broj taksona zabeležen je na tačkama uzorkovanja na donjem ulazu, što se naročito odnosi na tačku PD4, ali se takođe izdvaja i tačka PG1, na gornjem ulazu ove pećine. Na tački PD1 dominiraju kokoidne Cyanobacteria, dok na tački PD3 dominiraju predstavnici razdela Bacillariophyta. Rodovi cijanobakterija *Chroococcus*, *Gloeocapsa* i *Gloeothece* i rod *Humidophila*, koji pripada silikatnim algama, dominiraju po broju identifikovanih taksona. Na najviše tačaka uzorkovanja (6) zabeleženi su *Chroococcus ercegovicii*, *Chroococcus helveticus* i *Cymbopleura rupicola* var. *minor*. Predstavnici razdela Bacillariophyta – *Cymbella affiniformis* i *Hantzschia cf. rhaetica*, taksoni su koji su jedino zabeleženi u ovoj pećini.



Grafik 23. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (donji ulaz PD1 –PD4, gornji ulaz PG1 – PG5) u Prekonoškoj pećini.

4.5.13. Petnička pećina

U uzorcima biofilma iz Petničke pećine (Grafik 24) identifikovano je ukupno 14 taksona cijanobakterija i algi, a u uzorku endolitskih algi zabeležen je samo jedan takson koji pripada grupi homocitnih cijanobakterija. U uzorcima biofilma na većini tačaka i u ovoj pećini dominiraju predstavnici kokoidne grupe razdela Cyanobacteria kojih ima najviše na tački P1, gde je ujedno zabeležen i najveći diverzitet. Ipak, na najviše tačaka uzorkovanja javlja se *Leptolyngbya* sp. Jedan interesantan takson, koga karakteriše pravo grananje (*Geitleria calcarea*) nađen je samo u ovoj pećini na tački P3. Pored ovoga, ova pećina je specifična i po prisustvu neidentifikovanog endolitskog taksona homocitnih cijanobakterija, koji najverovatnije pripada grupi pravih endolita, odnosno euendolita.



Grafik 24. Broj identifikovanih taksona svih prisutnih grupa i razdela na svakoj tački uzorkovanja (P1 – P3, Pe1) u Petničkoj pećini.

Kod pećina Samar i Jezava, biofilm je sa svake tačke uzorkovan četiri puta godišnje, pa će detaljnija analiza zajednice aerofitskih algi biti objašnjena u sledećem poglavlju.

4.6. Sezonska dinamika zajednice aerofitskih cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma na primeru pećina Samar i Jezava

Na osnovu sezonske analize uzoraka biofilma iz pećine Samar, zabeleženo je prisustvo ukupno 141 taksona cijanobakterija i algi koji su svrstani u 4 razdela: Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta. Razdeo Cyanobacteria dominira sa 69 zabeleženih taksona (od čega su 53 kokoidne forme), a prati ga razdeo Bacillariophyta sa 60 identifikovanih taksona. *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeothece*, *Humidophila* i *Luticola* predstavljaju rodove u kojima je zabeležen najveći broj taksona. Veliki broj taksona, pre svega taksona razdela Bacillariophyta, zabeležen je samo u pećini Samar: *Anathece smithii*, *Calothrix fusca* f. *durabilis*, *Chroococcus lithophilus*, *Cosmarium subcrenatum*, *Cosmarium* sp. *Amphora copulata*, *Amphora* sp., *Brachysira* sp. *Coccconeis placentula*, predstavnici roda *Encyonema*, *Gomphonema acidoclinatum*,

Gomphonema minutum, *Humidophila pyrenaica*, *Luticola andina*, *Luticola angusta*, *Luticola cf. similis*, *Luticola nivaloides*, *Luticola ventricosa*, *Luticola* sp. 1, *Nitzschia dissipata* var. *media* i *Pinnularia rabenhorstii*.

U pećini Jezava zabeležen je manji diverzitet cijanobakterija i algi nego u pećini Samar (61 takson iz 4 razdela), ali takođe dominira razdeo Cyanobacteria sa 38 zabeleženih taksona (27 kokoidnih predstavnika), a prati ga razdeo Bacillariophyta sa 19 identifikovanih taksona. Samo tri taksona zelenih algi su zabeležena. U najraznovrsnije rodove se ubrajaju *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Leptolyngbya* i *Humidophila*. Jedini takson karakterističan samo za ovaj lokalitet je neidentifikovani takson razdela Chlorophyta - Chlorophyta 1.

Spisak svih zabeleženih taksona cijanobakterija i algi po sezonama u pećinama Samar i Jezava predstavljen je u Tabeli 4.

Tabela 4. Spisak zabeleženih taksona cijanobakterija i algi po sezonama u uzorcima biofilma u pećinama Samar i Jezava (S – pećina Samar, J – pećina Jezava, D – decembar, M – mart, Ma – maj, A – avgust).

Taksoni	SD	SM	SMa	SA	JD	JM	JMa	JA
Cyanobacteria								
<i>Anathece clathrata</i>	*	*		*	*			
<i>Anathece smithii</i>				*				
<i>Aphanocapsa fusco-lutea</i>		*	*	*				
<i>Aphanocapsa muscicola</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Aphanocapsa</i> spp.	*						*	
<i>Aphanothece castagniei</i>	*	*						*
<i>Aphanothece</i> cf. <i>bullosa</i>				*				
<i>Aphanothece pallida</i>	*	*	*	*				
<i>Aphanothece saxicola</i>	*	*						*
<i>Aphanothece</i> spp.							*	
<i>Asterocapsa</i> cf. <i>purpurea</i>	*	*		*				
<i>Asterocapsa</i> sp. 1		*		*	*			
<i>Asterocapsa</i> sp. 2	*							
<i>Asterocapsa</i> sp. 4			*					
<i>Asterocapsa</i> sp. 5				*				
<i>Asterocapsa</i> spp.				*				
<i>Calothrix fusca</i> f. <i>durabilis</i>	*	*						

<i>Chlorogloea</i> spp.	*	*	*	*	*
<i>Chroococcus</i> cf. <i>spelaeus</i>	*	*	*	*	
<i>Chroococcus</i> cf. <i>turicensis</i>	*		*		*
<i>Chroococcus cohaerens</i>		*			
<i>Chroococcus helveticus</i>	*	*		*	*
<i>Chroococcus lithophilus</i>		*			
<i>Chroococcus minor</i>				*	
<i>Chroococcus spelaeus</i>	*	*		*	
<i>Chroococcus turicensis</i>				*	
<i>Chroococcus varius</i>			*		*
<i>Chroococcus</i> spp.	*		*		*
<i>Chroococcidiopsis</i> spp.	*	*	*	*	
<i>Eucapsis</i> sp.					*
<i>Entophysalis atroviolacea</i>		*			
<i>Gloeocapsa alpina</i>		*	*	*	
<i>Gloeocapsa atrata</i>	*		*		*
<i>Gloeocapsa biformis</i>	*	*		*	*
<i>Gloeocapsa</i> cf. <i>alpina</i>	*	*	*		
<i>Gloeocapsa</i> cf. <i>violacea</i>	*	*	*		
<i>Gloeocapsa compacta</i>	*	*	*		
<i>Gloeocapsa kuetzingiana</i>		*			
<i>Gloeocapsa lignicola</i>		*	*		
<i>Gloeocapsa novacekii</i>	*	*			
<i>Gloeocapsa punctata</i>	*		*		*
<i>Gloeocapsa reicheldtii</i>	*	*		*	*
<i>Gloeocapsa sanguinea</i>	*	*			
<i>Gloeocapsa violacea</i>	*	*		*	
<i>Gloeocapsa</i> spp.		*			*
<i>Gloeocapsopsis</i> cf. <i>polyedrica</i>				*	*
<i>Gloeocapsopsis</i> spp.		*			
<i>Gloethce abiscoensis</i>	*	*		*	
<i>Gloethce confluens</i>		*	*		
<i>Gloethce fusco-lutea</i>		*			
<i>Gloethce membranacea</i>			*		
<i>Gloethce palea</i>	*				
<i>Gloethce rupestris</i>	*	*	*	*	*
<i>Gloethce subtilis</i>				*	
<i>Gloethce violacea</i>	*	*			
<i>Gloethce</i> spp.			*		*
Heterocitina Cyanobacteria	*				

<i>Kamptонема animale</i>	*							
<i>Kokalna Cyanobacteria 1</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Leptolyngbya foveolarum</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Leptolyngbya perforans</i>	*		*	*		*		
<i>Lepolyngbya valderiana</i>	*	*			*		*	
<i>Leptolyngbya</i> sp. 1	*	*	*	*	*	*	*	
<i>Leptolyngbya</i> spp.	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Nostoc comune</i>	*	*		*	*	*		*
<i>Nostoc punctiforme</i>	*		*	*	*	*	*	*
<i>Nostoc</i> spp.	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Phormidesmis</i> sp.			*					
<i>Pseudocapsa dubia</i>	*				*	*	*	*
<i>Scytonema myochrous</i>	*	*						
<i>Scytonema varium</i>					*			
<i>Synechococcus elongatus</i>	*							
<i>Synechocystis pevalekii</i>						*		
<i>Tapinothrix bornetii</i>			*					
<i>Tolypothrix</i> spp.	*	*				*		
<i>Wolskyella cf. floridana</i>	*	*	*					*
Chlorophyta								
<i>Chlorophyta 1</i>					*			
<i>Coccomyxa cf. litoralis</i>		*			*			
<i>Cosmarum rectangulum</i>					*			
<i>Cosmarium subcrenatum</i>					*			
<i>Cosmarium</i> sp.		*						
<i>Cylindrocystis brebisonii</i> f. <i>genuine</i>	*	*			*			
<i>Desmococcus olivaceus</i>	*	*	*	*		*	*	
<i>Gloeocystis vesiculosa</i>	*		*		*			
<i>Phacomyx</i> sp.	*	*	*		*			
<i>Stichococcus bacillaris</i>	*	*			*			
<i>Trentepohlia aurea</i>	*	*						
<i>Trochiscia</i> sp.	*	*	*	*	*		*	
Xanthophyta								
<i>Xanthophyta 1</i>					*		*	
Bacillariophyta								
<i>Achnanthes coarctata</i>	*	*	*	*				
<i>Achnanthes pseudocoarctata</i>	*	*	*					
<i>Achnanthes sinaensis</i>	*	*	*	*	*	*	*	

<i>Achnanthes</i> spp.	*	*	*	*	*
<i>Achnanthidium minutissimum</i>			*		
<i>Achnanthidium pyrenaicum</i>	*	*			
<i>Amphora copulata</i>		*			
<i>Amphora</i> spp.	*				
<i>Brachysira</i> spp.	*		*		
<i>Centrična Bacillariophyta</i>	*	*			
<i>Cocconeis placentula</i>	*		*		
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypha</i>	*	*	*		
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i>			*	*	
<i>Cocconeis pseudolineata</i>		*			
<i>Cymbella compacta</i>				*	
<i>Cymbella parva</i>	*		*	*	
<i>Cymbopleura rupicola</i> var. <i>minor</i>	*	*	*	*	*
<i>Ditoma problematica</i>				*	
<i>Diatoma</i> spp.		*			
<i>Encyonema prostratum</i>	*				
<i>Encyonema</i> sp.	*				
<i>Falacia insociabilis</i>		*		*	*
<i>Gomphonema acidoclinatum</i>		*			
<i>Gomphonema micropus</i>			*		
<i>Gomphonema minutum</i>	*				
<i>Gomphonema pumilum</i>			*		
<i>Gomphonema</i> sp.				*	
<i>Hantzschia abundans</i>	*	*	*	*	*
<i>Hantzschia calcifuga</i>					*
<i>Hantzschia amphioxys</i>	*		*		
<i>Hantzschia</i> spp.		*	*	*	*
<i>Humidophila aerophila</i>	*	*	*	*	*
<i>Humidophila biceps</i>		*	*		
<i>Humidophila brekkensoides</i>			*		
<i>Humidophila contemnata</i>				*	*
<i>Humidophila contenta</i>	*	*	*	*	*
<i>Humidophila paracontenta</i>	*	*	*	*	*
<i>Humidophila perpusilla</i>				*	*
<i>Humidophila pyrenaica</i>			*		
<i>Humidophila</i> spp.	*	*	*		

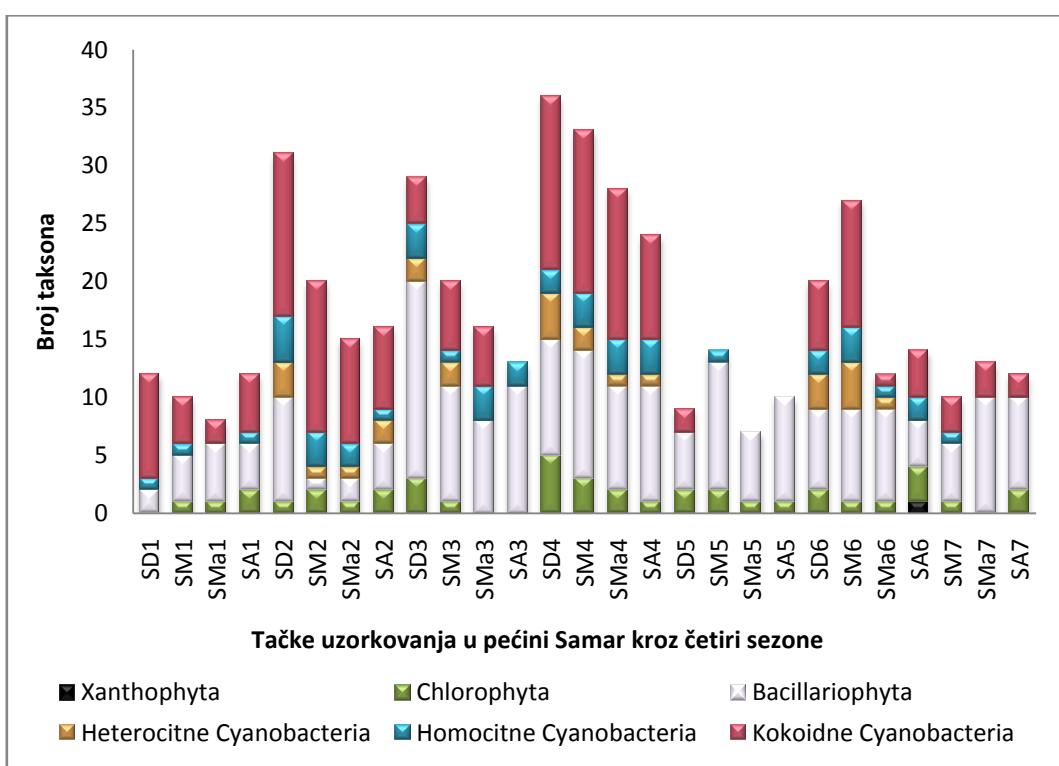
<i>Luticola andina</i>	*
<i>Luticola angusta</i>	*
<i>Luticola cf. similis</i>	*
<i>Luticola frequentissima</i>	*
<i>Luticola kopanjae</i>	*
<i>Luticola nivalis</i>	*
<i>Luticola nivaloides</i>	*
<i>Luticola quinquenodis</i>	*
<i>Luticola ventricosa</i>	*
<i>Luticola</i> sp. 1	*
<i>Luticola</i> spp.	*
<i>Navicula tripunctata</i>	*
<i>Navicula</i> spp.	*
<i>Nitzschia acidoclinata</i>	*
<i>Nitzschia amphibia</i>	*
<i>Nitzschia dissipata</i>	*
<i>Nitzschia dissipata</i> var. <i>media</i>	*
<i>Orthoseira dendroteres</i>	*
<i>Orthoseira roseana</i>	*
<i>Orthoseira</i> spp.	*
<i>Pinnularia borealis</i>	*
<i>Pinnularia rabenhorstii</i>	*
<i>Pinnularia subrabenhorstii</i>	*
<i>Pinnularia</i> spp.	*

Tokom decembra i marta, u uzorcima biofilma iz pećine Samar zabeležen je skoro podjednak broj taksona: 88, odnosno 83. Nešto niži diverzitet cijanobakterija i algi zabeležen je tokom maja (65 taksona) i avgusta (66 taksona). 24 taksona cijanobakterija i algi zabeleženo je u sve četiri sezone, dok su ostali zabeleženi u tri i manje (55 taksona je zabeleženo u samo jednoj od četiri sezone). Taksoni koji su u pećini Samar zabeleženi u sve četiri sezone su: *Aphanocapsa muscicola*, *Aphanothece* cf. *pallida*, *Chlorogloea* spp., *Chroococcus* cf. *spelaeus* *Chroococcidiopsis* spp., *Gloeothece rupestris*, Kokalna Cyanobacteria 1, *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya* sp.1, *Leptolyngbya* sp., *Nostoc* sp., *Desmococcus olivaceus*, *Phacomyx* sp., *Trochiscia* sp., *Achnanthes coarctata*, *Achnanthes sinaensis*, *Cymbopleura rupicola*, *Hantzschia abundans*, *Humidophila aerophila*, *Humidophila contenta*,

Humidophila paracontenta, *Nitzschia dissipata*, *Orthoseira dendroteres* i *Orthoseira roseana*.

U uzorcima biofilma iz pećine Jezava tokom decembra i marta zabeležen je podjednak broj taksona cijanobakterija i algi (39), dok je po 9 taksona zabeleženo tokom maja i avgusta. Ukupno 40 taksona zabeleženo je u samo jednoj sezoni, dok su samo tri taksona (*Chroococcus helveticus*, *Leptolyngbya foveolarum* i *Nostoc punctiforme*) bila prisutna tokom sve četiri sezone.

Grafik 25 daje detaljniji prikaz broja zabeleženih taksona u pećini Samar na svakoj tački uzorkovanja u svakoj sezoni, kao i odnos grupa i razdela identifikovanih cijanobakterija i algi na osnovu broja taksona.

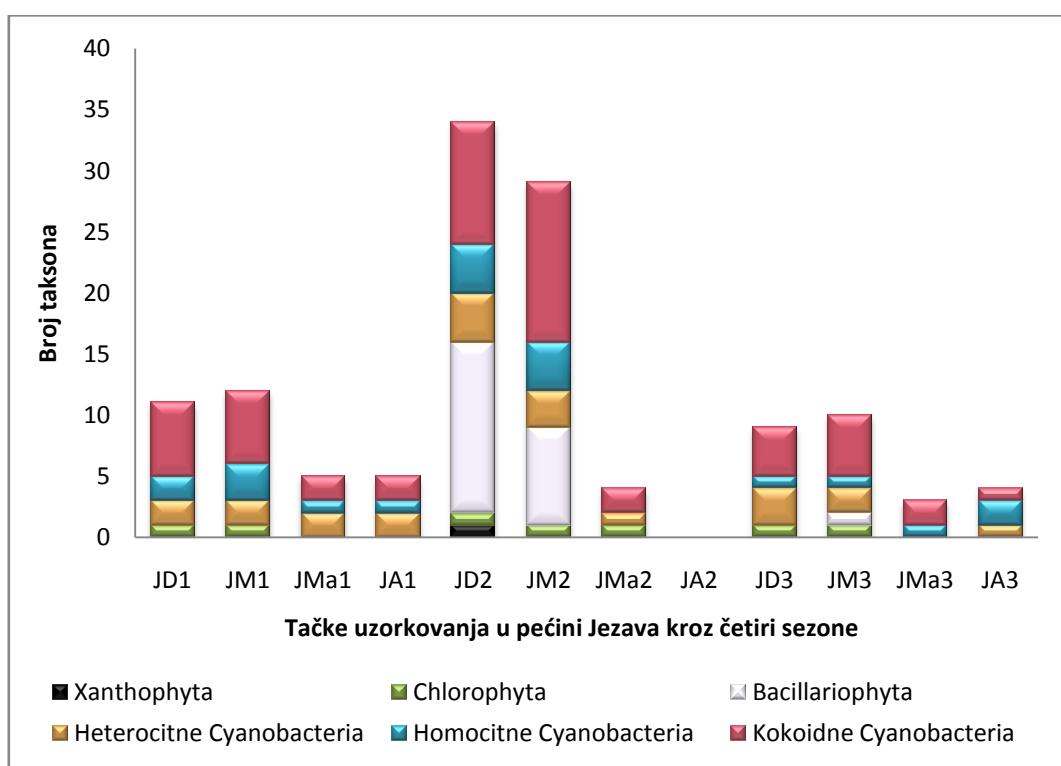


Grafik 25. Broj zabeleženih taksona cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma na svakoj tački uzorkovanja tokom četiri sezone u pećini Samar (S – pećina Samar, D – decembar, M – mart, Ma – maj, A – avgust).

Zapaža se da je diverzitet cijanobakterija i algi najveći na tački S4, a najmanji na tačkama S1, S5 i S7. Na tačkama S1, S5 i S7 broj taksona je prilično ujednačen kroz sezone, dok je kod svih ostalih tačaka (osim tačke S6) najveći zabeležen tokom

decembra. Na tački S6, najveći diverzitet zabeležen je u martu. U velikom broju uzoraka dominiraju kokoidne cijanobakterije, ali takođe je i broj taksona silikatnih algi relativno visok. Na tačkama S2 i S4 su dominirale kokoidne cijanobakterije, dok je silikatnih bilo više u odnosu na druge predstavnike u na tačkama S3, S5 i S7. Homocitne cijanobakterije su zabeležene na svakoj tački, dok su heterocitne nađene samo na četiri tačke: S2, S3, S4 i S6. Predstavnici razdela Chlorophyta su takođe identifikovani na svakoj tački, dok je jedini predstavnik razdela Xanthophyta nađen samo na tački 6 u avgustu.

Na Grafiku 26 se vidi koliko ukupno ima taksona na svakoj tački uzorkovanja u svakoj sezoni, kao i broj taksona po grupama cijanobakterija i algi u pećini Jezava.



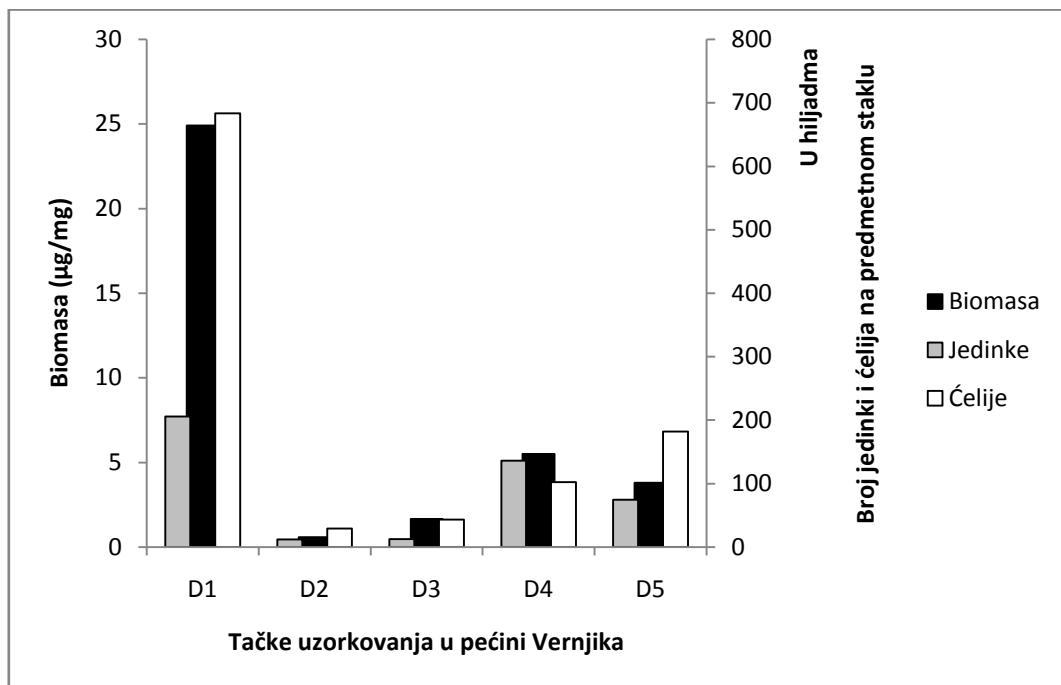
Grafik 26. Broj zabeleženih taksona cijanobakterija i algi u uzorcima biofilma na svakoj tački uzorkovanja tokom četiri sezone u pećini Jezava (J – pećina Jezava, D – decembar, M – mart, Ma – maj, A – avgust).

Na tački J2 je zabeležen najveći diverzitet i to tokom decembra i marta, dok u avgustu nije bilo biofilma koji bi se mogao uzorkovati. Na druge dve tačke diverzitet je manji, ali je takođe tokom decembra i marta broj taksona veći u odnosu na maj i avgust.

Kokoidne cijanobakterije dominiraju u većini uzoraka, dok se silikatne alge po broju taksona ističu na tački 2 tokom decembra. Sve ostale grupe su bile prisutne na svim tačkama, dok su samo Xanthophyta zabeležene na tački J2 u decembru.

4.7. Kvantitativna analiza odabranih uzoraka biofilma

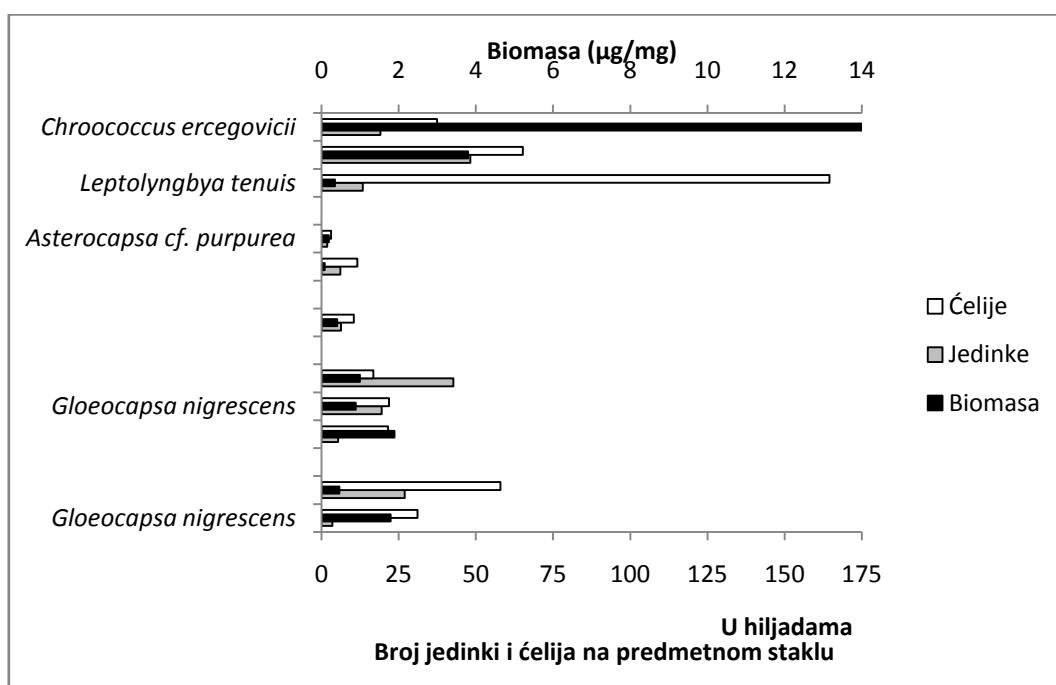
U Degurićkoj pećini ukupan broj jedinki i čelija po jedinici biomase biofilma, odnosno po miligramu, kao i ukupna biomasa, imaju najveće vrednosti na tački D1, a najmanje na D2 (Grafik 27). Najveće vrednosti ovih parametara na tački D1 podudaraju se i sa činjenicom da je na ovoj tački zabeležen i najveći broj taksona prilikom kvalitativne analize.



Grafik 27. Ukupna vrednost biomase i ukupan broj jedinki i čelija u 1 mg uzorka biofilma sa tačaka uzorkovanja u Degurićkoj pećini.

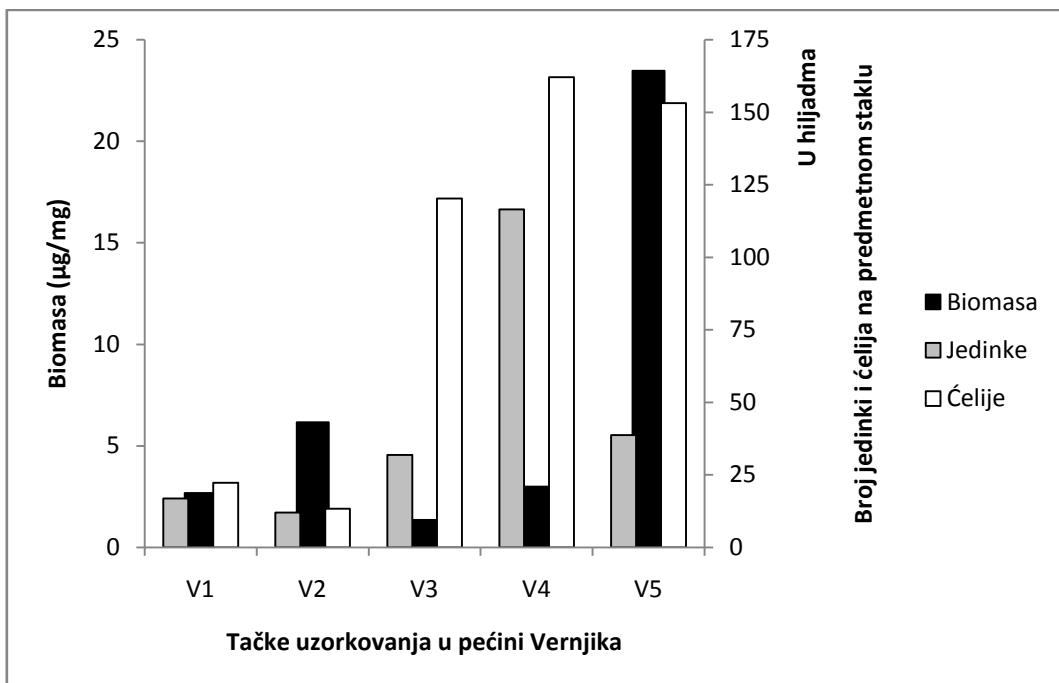
Na tački D1, najveći broj čelija ima trihalna cijanobakterija *Leptolyngbya tenuis*, najveći broj jedinki zelena alga *Desmococcus olivaceus*, a predstavnik sa najvećom biomasom u ovom uzorku biofilma je *Chroococcus ercegovicii*. Na tački D2, kokalna cijanobakterija *Gloeobacter violaceus* ima najveći broj jedinki i čelija. Vrednosti biomase su niske za sve zabeležene taksone, ali se ipak po nešto većoj vrednosti od

ostalih izdvaja *Asterocapsa* cf. *purpurea*. Ova kokalna cijanobakterija na tački D3 dominira u svakom pogledu. Ona se takođe i na tački D4 izdvaja u pogledu broja jedinki, ali je broj ćelija veći kod taksona *Gloeocapsa nigrescens*, dok se po biomasi izdvaja heterocitna cijanobakterija *Nostoc commune*. Ipak, na tački D5, *Gloeocapsa nigrescens* ima najveću biomasu, dok je najveći broj jedinki i ćelija zabeležen kod taksona *Chroococcus varius* (Grafik 28).



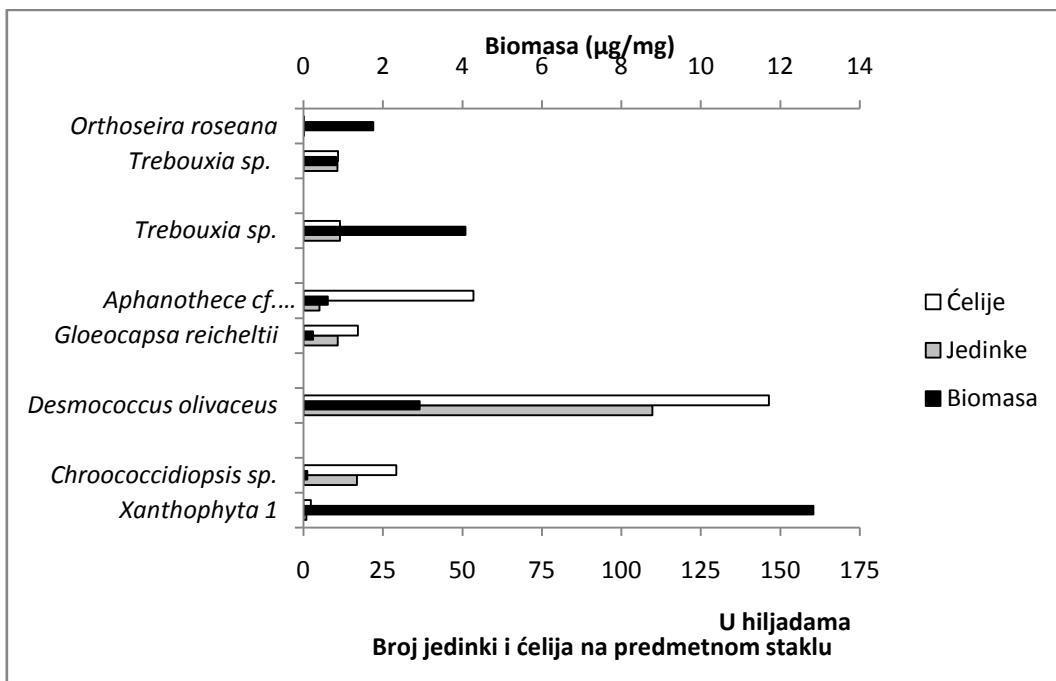
Grafik 28. Taksoni cijanobakterija i algi koji imaju najveći broj jedinki i ćelija, kao i najveću vrednost biomase u uzorcima biofilma iz Degurićke pećine (D1 – *Chroococcus ercegovicii*, *Desmococcus olivaceus*, *Leptolyngbya tenuis*; D2 – *Gloeobacter violaceus*, *Asterocapsa* cf. *purpurea*; D3 – *Asterocapsa* cf. *purpurea*; D4 - *Asterocapsa* cf. *purpurea*, *Gloeocapsa nigrescens*, *Nostoc commune*; D5 – *Chroococcus varius*, *Gloeocapsa nigrescens*).

U pećini Vernjikica ukupan broj jedinki i ćelija u 1 mg biofilma imaju najveće vrednosti na tački V4, dok je najveća biomasa određena u biofilmu sa tačke V5 (Grafik 29), na kojoj je inače zabeležen i visok diverzitet cijanobakterija i algi.



Grafik 29. Ukupna vrednost biomase i ukupan broj jedinki i ćelija u 1 mg uzorka biofilma sa tačaka uzorkovanja u pećini Vernjikica.

Najveći broj jedinki i ćelija u 1 mg biofilma na tački V1 (Grafik 30) ima zelena alga *Trebouxia* sp., ali najveću vrednost biomase silikatna alga *Orthoseira roseana*, iako ima neuporedivo manje jedinki (77) nasuprot 10 700 jedinki taksona *Trebouxia* sp. Na tački V2, *Trebouxia* sp. dominira u svakom pogledu. Tačka V3 se karakteriše najvećim brojem jedinki taksona *Gloeocapsa reicheltii*, dok kokalna cijanobakterija *Aphanethece cf. bullosa* ima najveći broj ćelija i najveću vrednost biomase. Zelena alga *Desmococcus olivaceus* se izdvaja na tački V4 i u pogledu broja jedinki i ćelija, i u pogledu biomase. Na tački V5, kokalna cijanobakterija *Chroococcidiopsis* sp. izdvaja se u smislu broja jedinki i ćelija, ali je biomasa najveća kod krupnog taksona i jedinog predstavnika razdela Xanthophyta.



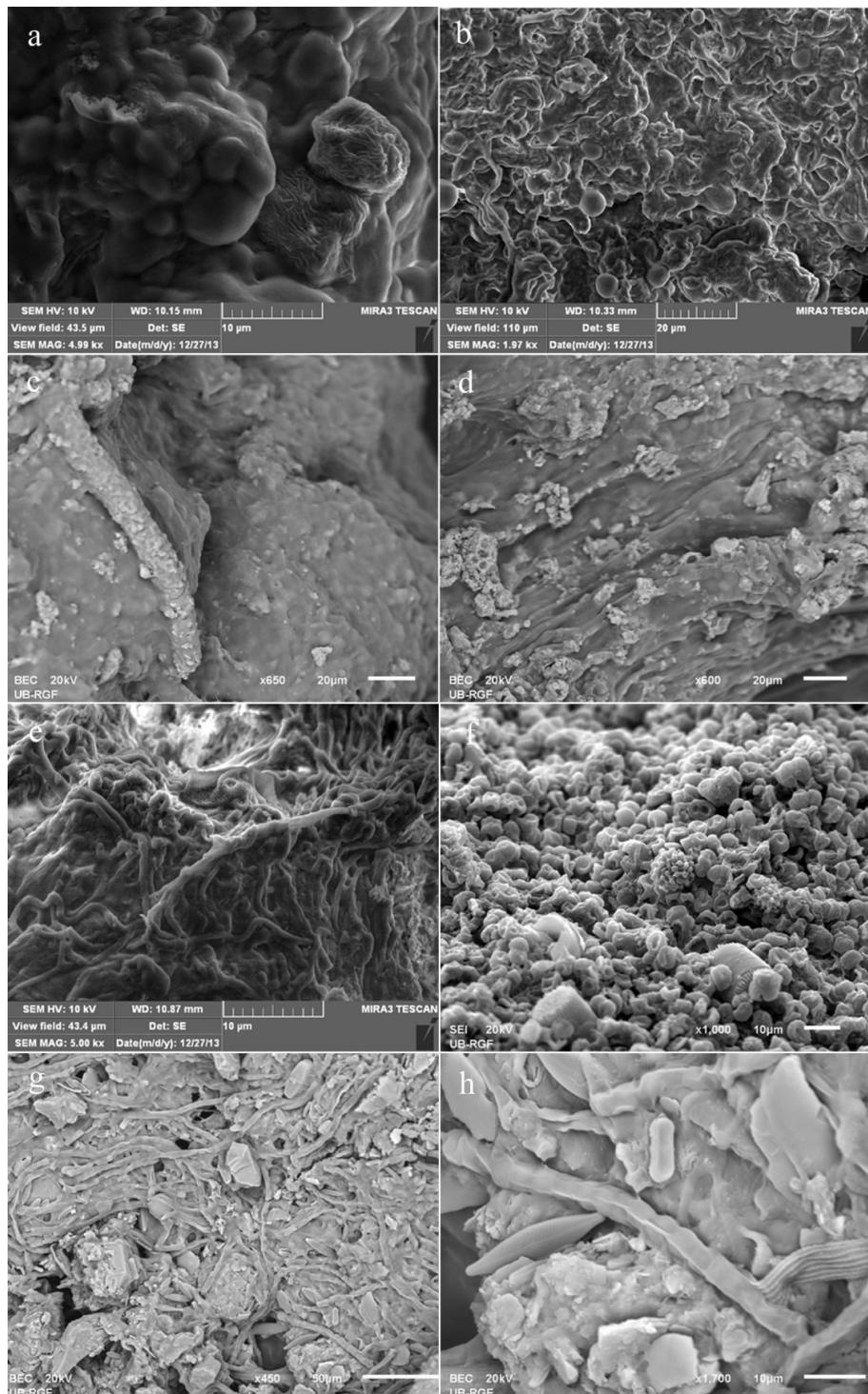
Grafik 30. Taksoni cijanobakterija i algi koji imaju najveći broj jedinki i ćelija, kao i najveću vrednost biomase u uzorcima biofilma iz pećine Vernjikica (V1 – *Trebouxia* sp., *Orthoseira roseana*; V2 – *Trebouxia* sp.; V3 – *Aphanthece cf. bullosa*, *Gloeocapsa reicheltii*; V4 – *Desmococcus olivaceus*; V5 – *Chroococcidiopsis* sp., *Xanthophyta 1*).

4.8. Rezultati analize uzoraka biofilma i endolitskih algi skening elektronskom mikroskopijom (SEM) i energetsko disperzivnom spektroskopijom (EDS)

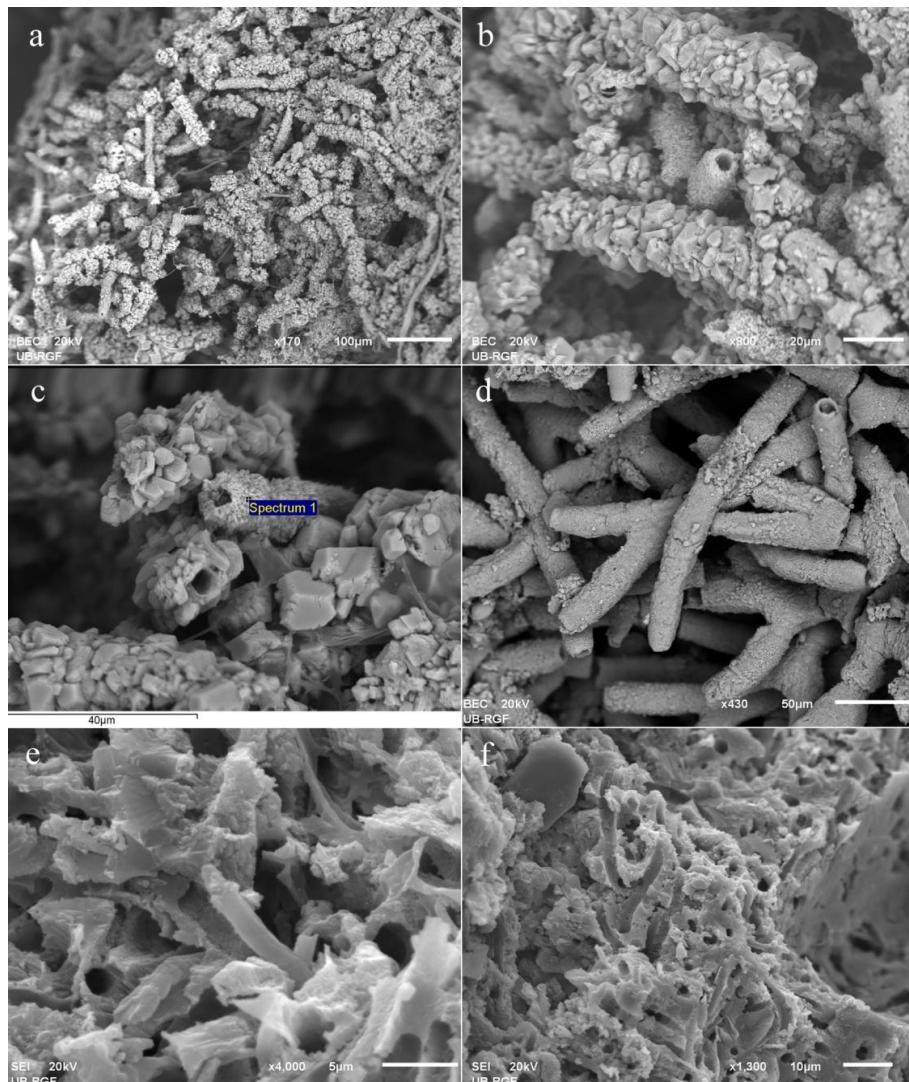
Nekoliko odabralih uzoraka biofilma analizirano je skening elektronskim mikroskopom i odabrane SEM mikrografije prikazane su na Slici 36. SEM mikrografije biofilmova u kojima dominiraju kokoidne forme cijanobakterija uronjene u dobro razvijeni ekstracelularni polimerni omotač (EPS) prikazane su na Slici 36a, b (tačke uzorkovanja B7 i B8). U biofilmu koji je prikazan na Slici 36c, d (tačke PG1 i S2), mikroorganizmi u samom biofilmu zbog dobro razvijenog EPS-a nisu vidljivi, ali se na površini uočavaju zakačeni delići stenovitog supstrata, minerali i čestice. Na Slici 36e, koja je snimljena na uzorcima biofilma iz Božanine pećine (B1), uočljivo je prisustvo trihalnih formi cijanobakterija: EPS je razvijen, ali ne u tolikoj meri kao u uzorcima gde dominiraju kokoidne forme. Uzorci u kojima dominiraju zelene i silikatne alge izgledaju malo drugačije: taksoni su obično bolje vidljivi i nisu uronjeni u debeli sloj

ekstracelularnih polimernih supstanci. Tako se u biofilmu na Slici 36f (tačka BG4) zapaža prisustvo velikog broja blago do potpuno dehidriranih ćelija dominantne zelene alge u tom uzorku – *Desmococcus olivaceus*. Sa druge strane, na Slikama 36g, h koje prikazuju biofilm sa tačke RC4, jasno se uočava trihalna zelena alga *Klebsormidium*, koja u biofilmu dominira zajedno sa silikatnim algama.

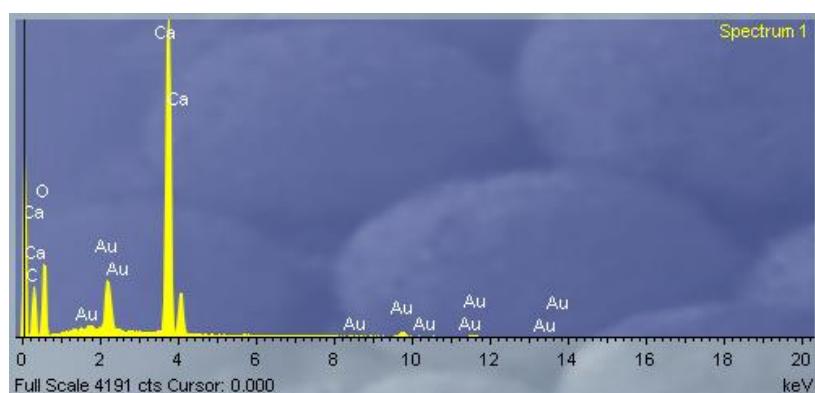
Slika 37 nam daje prikaz kako izgleda stena koju naseljavaju endolitske cijanobakterije, kao i prikaz epilitskih taksona cijanobakterija koji na svoje omotače talože kalcijum karbonat. Na mestu uzorkovanja L1, zabeleženo je priststvo jednog taksona koji pripada grupi trihalnih cijanobakterija, a koji ima sposobnost da na svoje omotače taloži kalcijum karbonat. Ono što je u ovom uzorku biofilma snimljeno su „kućice“ od kalcijum karbonata koje ovaj takson formira, a koje su sačinjene od zrna supstrata čija veličina varira. Ove „kućice“ nastale taloženjem kalcijum karbonata na ekstracelularni omotač cijanobakterije prikazane su na Slici 37a, b, c. Kao što se vidi na EDS dijagramu koji je dobijen na osnovu Slike 37c (Slika 38), u ovim tvorevinama je dominantan kalcijum. Slika 37d prikazuje jedan potpuno drugačiji takson iz uzorka biofilma sa tačke PE3. U pitanju je cijanobakterija *Geitleria calcarea*, koju pored sposobnosti da taloži kalcijum karbonat, karakteriše i pravo grnanje. Na Slici 37e, f snimljen je uzorak stene iz Petničke pećine koju naseljavaju endolitske cijanobakterije. Kao što se zapaža na ove dve slike, u pitanju je takson cijanobakterija koji aktivno razara stenoviti supstrat: na prvoj slici može se uočiti da je u pitanju trihalna cijanobakterija kod koje se vidi samo deo trihoma koji se nalazi van stene, a na drugoj slici prikazana je površina stenovitog supstrata na kojoj su otisci i tragovi aktivnosti ovog taksona.



Slika 36. SEM mikrografije odabranih uzoraka biofilma: a – Božanina pećina, tačka B7; b – Božanina pećina, tačka B8; c – Prekonoška pećina, tačka PG1; d – pećina Samar, tačka S2; e – Božanina pećina, tačka B1; f – Bogovinska pećina, tačka BG4; g,h – Rćanska pećina, tačka RC4.



Slika 37. SEM mikrografije odabranih uzoraka biofilma i stenovitog supstrata: a, b, c – Lazareva pećina, tačka L1; d – Petnička pećina, tačka PE3; e,f – Petnička pećina, uzorak stene za analizu endolitskih cijanobakterija i algi.



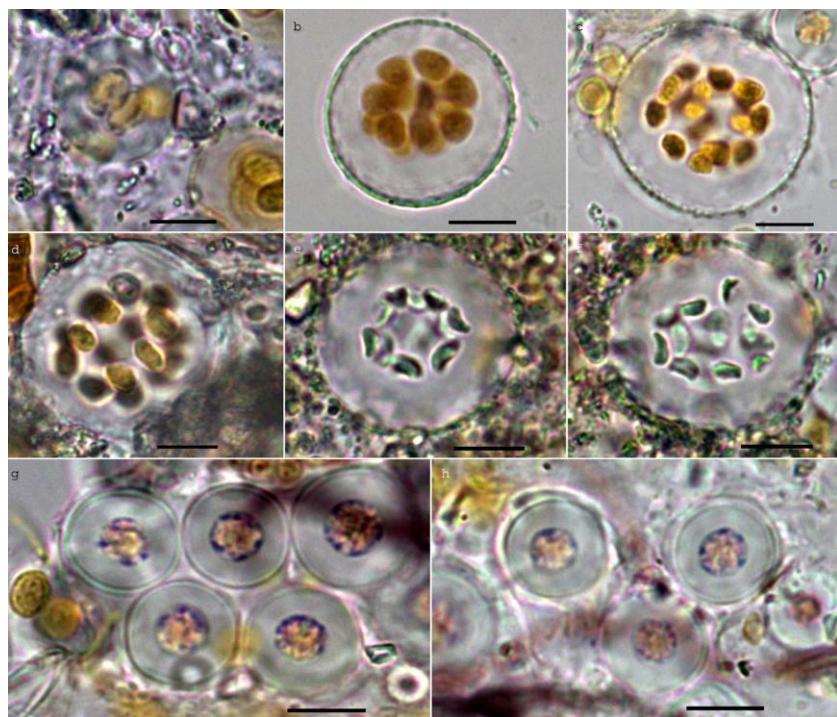
Slika 38. Energetsko disperzivna spektroskopija (EDS) uzorka biofilma sa tačke L1.

4.9. Opis nove vrste za nauku: *Nephrococcus serbicus* S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, sp. nov.

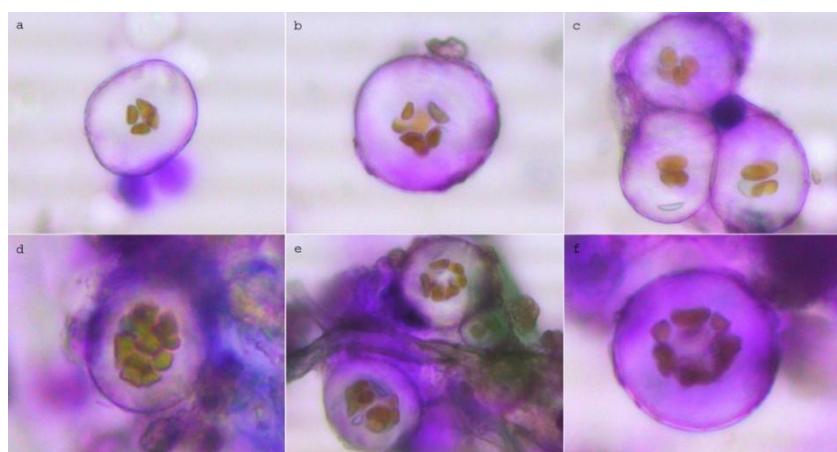
Tokom istraživanja u Božaninoj pećini, koja su vršena u letnjem periodu tokom 2014. godine, iz jednog uzorka biofilma opisana je nova vrsta cijanobakterije koja pripada rodu *Nephrococcus*. Ova aerofitska cijanobakterija nađena je na subaerofitskom, vlažnom, krečnjačkom supstratu Božanine pećine (nedaleko od ulaza) na nadmorskoj visini od 723 m. Do ovog otkrića, u rodu *Nephrococcus* postojale su samo tri zabeležene vrste, koje potču iz Kine i sa Nepala. Tokom karakterizacije i identifikacije materijala, nije bilo moguće ovaj takson izolovati u kulturi, niti uraditi molekularnu analizu. Ipak, s obzirom na to da je u pitanju rod cijanobakterija koji se izrazito retko sreće i imajući u vidu da su ostale vrste zabeležene na geografski veoma udaljenim područjima, detaljno je analizirana morfologija i ekologija ove vrste svetlosnim i konfokalnim mikroskopom, kako bi se na osnovu ovih parametara ovaj takson mogao opisati kao nov za nauku. Kako bi se novi takson za nauku propisno opisao, poštovana su pravila Međunarodnog Koda za Nomenklaturu za alge, gljive i biljke, nakon čega mu je dodeljeno ime *Nephrococcus serbicus*.

Nephrococcus serbicus

Ovu cijanobakteriju karakterišu kolonije koje su inicijalno 2- do 4-ćelijske (Slike 39a, 40a, c, respektivno), a kasnije višećelijske, sa najviše do 64 celije (Slike 39b, 40d). Kolonije su okružene širokim, mukoznim, uglavnom neslojevitim ili blago slojevitim (Slika 41n) bezbojnim omotačem čija je površina čvrsta. Prisustvo jednoćelijskih stadijuma nije zabeleženo, ali se oni evidentno javljaju (bar u obliku mogućih mirujućih stadijuma, Slike 39g, h, 42a). Omotač je kod mlađih kolonija više slojevit (npr. 2-ćelijski stadijum). Čvrsta površina omotača se zapaža i u neobojenom (Slika 39) i u materijalu bojenim bojom toluidin plavo (Slika 40). U biofilmu su najčešće prisutne kolonije koje imaju 4, 8 i 16 celija. Veličina višećelijske kolonije varira od 25–29 µm, a širina omotača od 4–9 µm. Ćelije se obično nalaze skocentrisane u centru kolonije, gde su ponekad gusto pakovane (Slike 39b, 40d), a u većini slučajeva raspoređene tako da čine oblik venca (Slike 39e, f, 41m).



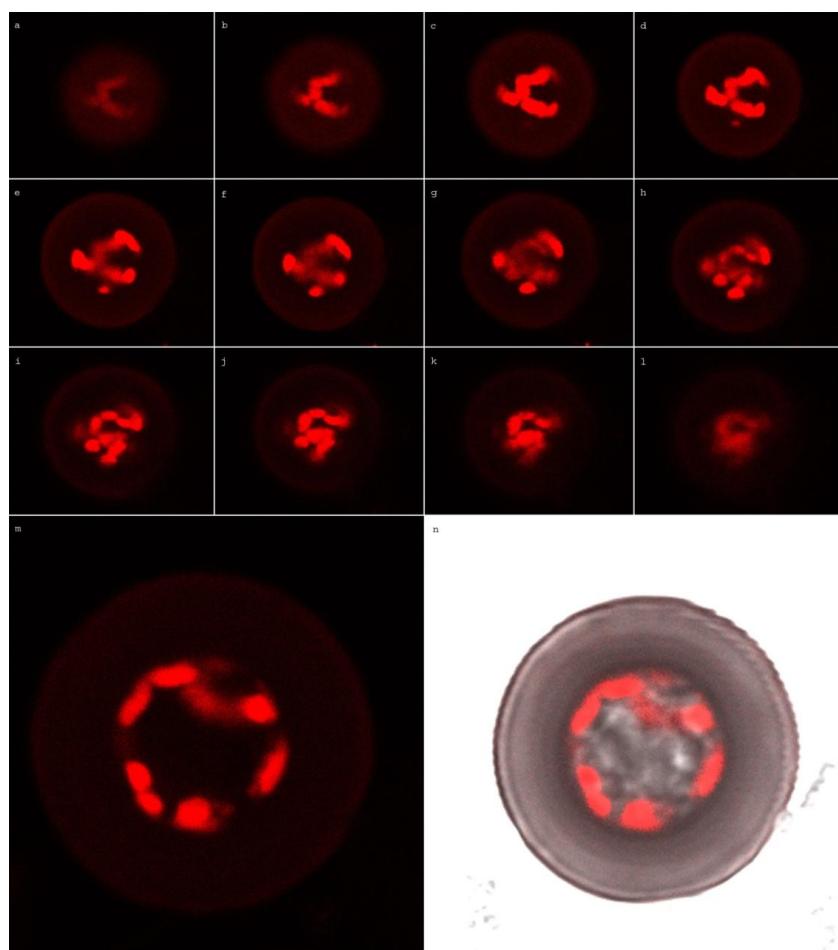
Slika 39. Kolonije *Nephrococcus serbicus*: a) 2-ćelijski stadijum sa žutobraon ćelijama i ćelijskim omotačima; b) ovalne, žutobraon ćelije u centru kolonije; c) žućkaste, nepravilno zaobljene ćelije raspoređene približno u formi venca; d) maslinasto zelene do žućkaste, nepravilno zaobljene ćelije raspoređene približno u formi venca; e) plavozelene ćelije bubrežastog oblika raspoređene tako da formiraju venac; f) plavozelene ćelije bubrežastog oblika raspoređene tako da formiraju dva venaca koji su postavljeni jedan nasuprot drugog; g, h) najverovatnije mirujući stadijum. Skala: 10 µm.



Slika 40. Kolonije *Nephrococcus serbicus* bojene toluidin plavim (polisaharidi se boje ljubičasto): a, c) stadijum sa 4 ćelije; b) stadijum sa 8 ćelija; d) ćelije u centru kolonije; e, f) formacija venca.

U prvom planu se često zapaža jedan venac, ali se formiraju najmanje dva koji se nalaze jedan nasuprot drugom (Slika 39f). Moguće je prisustvo više venaca. Oblik ćelija varira od loptastog, ovalnog (Slika 39b) ili nepravilnog (Slike 39c, d) do bubrežastog (Slike 39e, f), koji je najčešći, a boja od plavozelene (Slike 39e, f), maslinasto zelene (Slika 39d) do žućkaste (Slika 39c) i žućkastobraon (Slika 39b). Sadržaj ćelije je ili homogen ili blago granularan. Ćelijski omotači su vidljivi jedino kod 2-ćelijskih stadijuma (Slika 39a), a u kasnijim stadijumima razvića nisu vidljivi ili nisu prisutni. Dužina ćelija se kreće od 3–6,5 μm , a širina u središnjem delu od 1,5–4 μm . Crtež cijanobakterije *Nephrococcus serbicus* prikazan je na Slici 42.

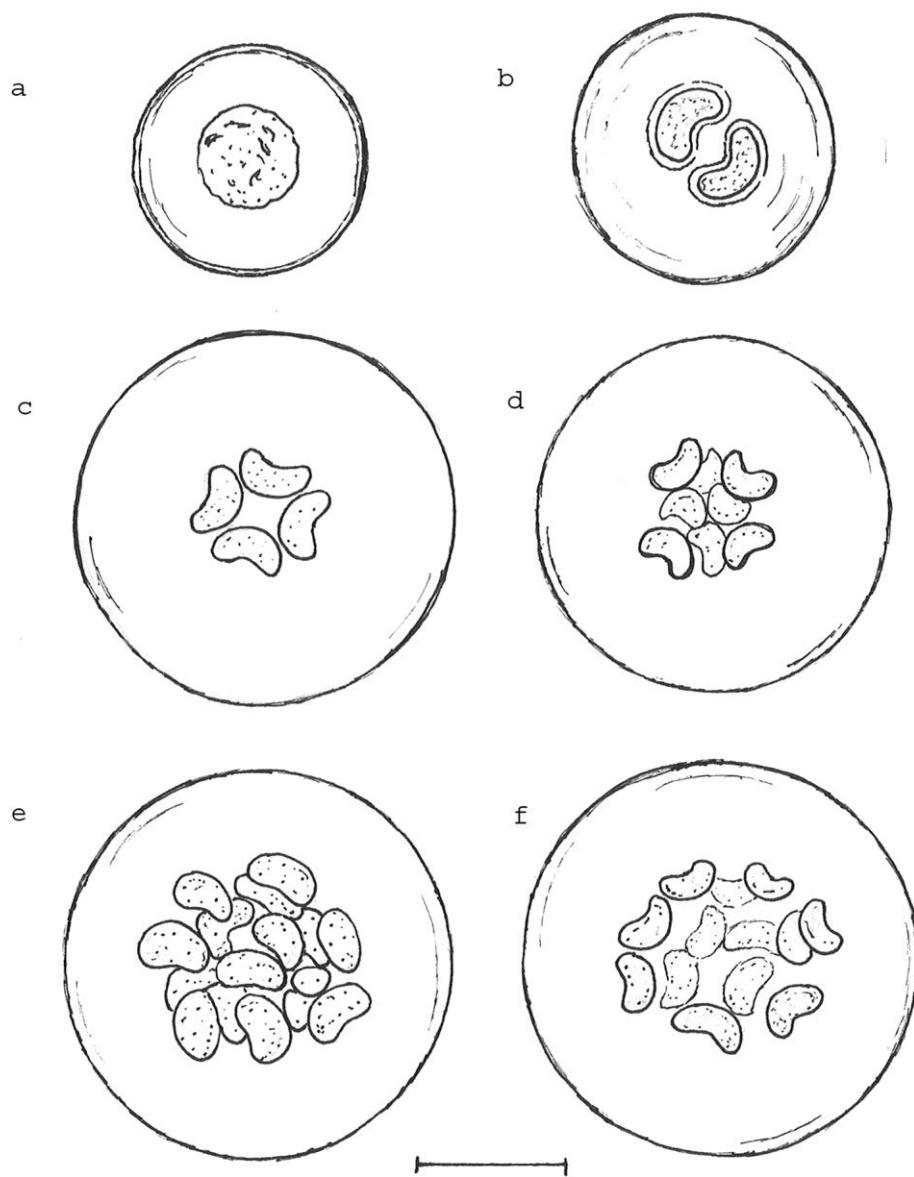
Kako bi se vizuelizovala 3D prostorna organizacija ćelija u kolonijama *Nephrococcus* – a, preparati su bojeni propidijum jodidom, a zatim posmatrani na konfokalnom mikroskopu (Slika 41).



Slika 41. CLSM: 3D prostorna organizacija ćelija u koloniji *Nephrococcus*-a, sa serijom tankih optičkih preseka uzorka (a-l). Crveno – genetički materijal.

Bez narušavanja strukture, napravljena je serija tankih optičkih preseka (2D slike dobijene na različitim intervalima). Ćelije su ili nepravilno raspoređene u centru kolonije (a–l) ili formiraju venac (m–n). Blaga slojevitost omotača kolonije se jasno vidi na slici 41n.

Crtež cijanobakterije *Nephrococcus serbicus* predstavljen je na Slici 42.



Slika 42. Crtež cijanobakterije *Nephrococcus serbicus*: a) verovatno mirujući stadijum; b) 2-ćelijski stadijum; c) 4-ćelijski stadijum; d) 8-ćelijski stadijum; e) višećelijski stadijum; f) formacija venca. Skala: 10 μm .

4.10. Petrografska analiza

Petrografska analiza rađena je na nivou pećina. U Tabeli 5 predstavljene su slike mikroskopskih preparata stenovitih podloga, dok je u tekstu ispod dato objašnjenje za svaku pećinu ponaosob.

Stena u Božaninoj pećini je kristalaste strukture i relativno homogene (masivne) teksture. Jedno od karakterističnih tekturnih svojstava jeste i pojava stilolitskih pukotina (Tabela 5a) koje su markirane deponatima oksida i hidroksida gvožđa (limonitom i drugim Fe-mineralima). Iako je stenska masa izgrađena od mikrosparitske komponente, veličina kristala kalcita varira. Posebno krupan kalcit je razvijen u pojedinim pukotinama ili se pojavljuju pojedinačna krupna kalcitska zrna koja predstavljaju rekristalisale fosile. Stena je rekristalisali krečnjak.

U Ribničkoj pećini, stena je organogene strukture (Tabela 5b) i masivne teksture. Izgrađena je od ljušturica mikrofosila (orbitoline, alge i drugi) i intraklasta. Osnova stene je sparitskog karaktera, dok su fosili i intraklasti izgrađeni od mikritskog karbonata. Ekstraklasti su retki i čine ih klasti kvarca i retke liske muskovita. Uočavaju se i retke metalične, najverovatnije gvoževite faze. U pojedinim delovima, najverovatnije u porama, zapaža se silifikacija. Stena je organogeni krečnjak.

Stena u Degurićkoj pećini je kristalaste strukture (Tabela 5c) i masivne teksture. Po svojim strukturno-tekturnim odlikama podseća na stenu Božanine pećine, ali ovde izostaju stilolitske pukotine. Stenska masa je izgrađena od kalcita mikrosparitskog karaktera koji je najverovatnije nastao rekristalizacijom mikrita. Pojedini ostaci bioklasta su izgrađeni od krupnijeg rekristalisala kalcita. Krupniji kalcit, takođe, izgrađuje žilice i zapunjava pukotine. Stena je rekristalisali krečnjak.

U Rćanskoj pećini, stena je kristalaste strukture (Tabela 5d) i masivne teksture. Specifičnost ovog uzorka, u odnosu na prethodno opisane uzorke iz Božanine, Ribničke i Deguriće pećine, jeste pojavljivanje izduženih karbonatnih agregata koji izgrađuju trake (Tabela 5e). Ovakav način pojavljivanja je tipičan za aragonit, ali u ovom uzorku je moguće da je aragonit rekristalisao u kalcit. Stenska masa deluje delimično izlomljeno, što steni daje ruditski karakter. Ispitivana stena je klastični (kalkruditski) krečnjak.

U pećini Vernjikica, stena je kristalaste, sa elementima organogene strukture i fenestralne teksture (Tabela 5f). Ovo je prva stena koja ima tipičan mikritski karakter osnove. Stenska masa je izbrečirana, a krupan kalcit deponovan je u prslinama koje su orijentisane u različitim pravcima. U mikritskoj osnovi se uočavaju ostaci fosila (foraminifere, miliolide i drugi). Proces silifikacije se zapaža duž pravaca cepljivosti krupnozrnih kalcita iz prslina. Stena je mikritski krečnjak.

U pećini kod Sove stena je kristalaste, sa elementima organogene strukture i fenestralne teksture (Tabela 5g). Stenska masa pokazuje izvestan stepen brečijacije. Kao i kod pećine Vernjikica i ovaj uzorak ima mikritski karakter osnove. Stena je izgrađena od mikritske osnove u kojoj se nalaze ostaci makro- i mikrofosila. Stenska masa je ispresecana brojnim pukotinama orijentisanim u različitim pravcima, u kojima je deponovan krupnozrni kalcit. Retko je prisutna i silifikacija. Stena je mikritski krečnjak.

Analizirani uzorak stene u Lazarevoj pećini je klastične (psamitske) strukture (Tabela 5h) i masivne teksture. Izgrađena je od klasti različitih stena (kvartita, škriljaca, vulkanita, karbonata, granitoida i drugih) i klasti minerala (kvarca, feldspata – plagioklasa, ortoklasa i mikrokлина, liskuna, metaličnih minerala, cirkona i drugih). Vezivo je najverovatnije silicijskog karaktera, moguće da je reč o silifikovanom karbonatnom vezivu. Stena je peščar.

U povremenom sifonskom vrelu kod Kravlja (Cerjanska pećina), stena je kristalaste, sa elementima organogene strukture (Tabela 5i) i masivne teksture. Osnova stene je mikritska. Sadrži ostatke fosila, kao i pukotine zapunjene kalcitom. Stena je (fosiliferni) mikritski krečnjak.

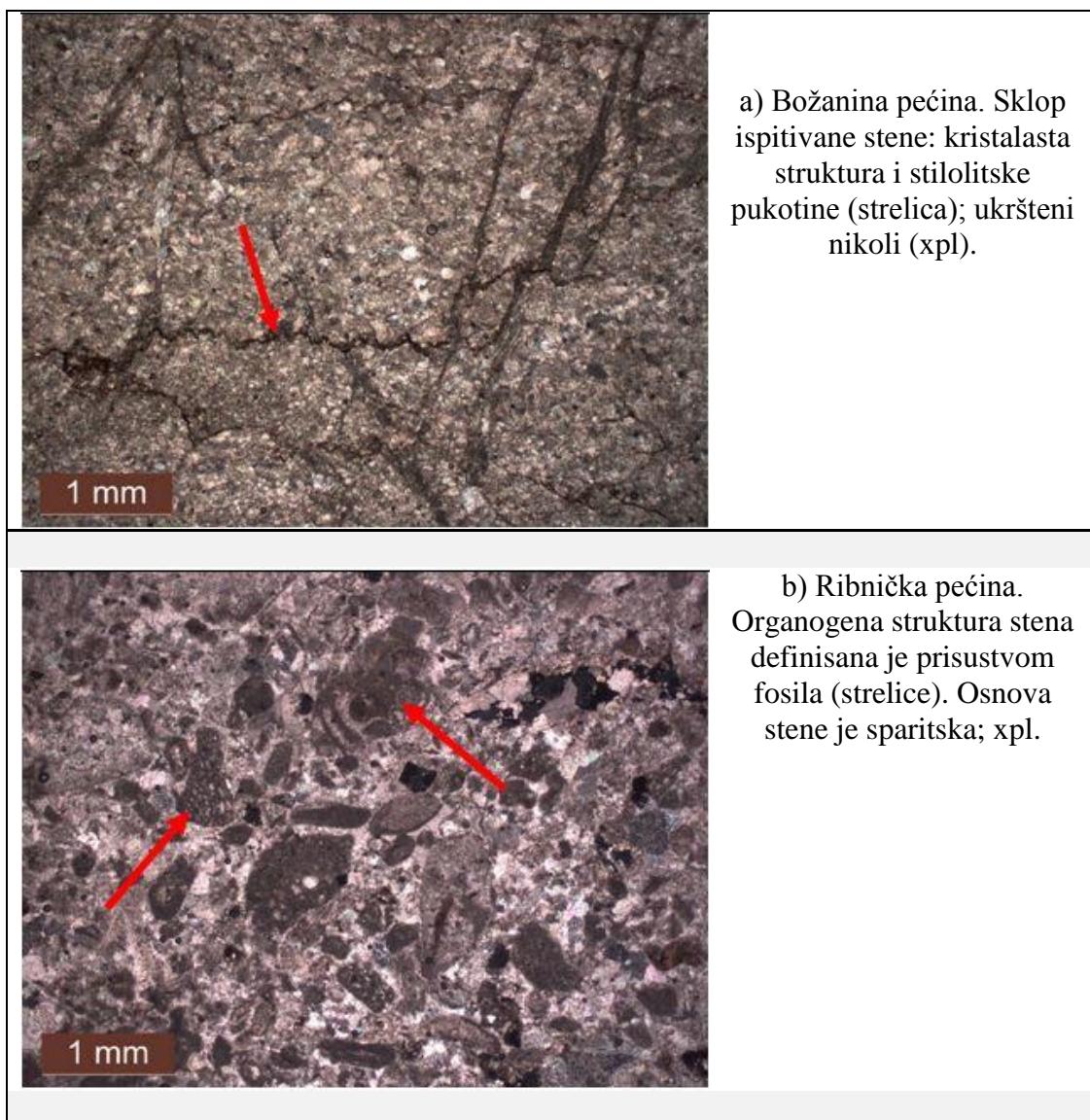
Stena je kristalaste strukture i laminacione teksture u Prekonoškoj pećini. Osnova stene je vrlo homogena, izgrađena od mikrita do mikrosparita. Osim retkih lamina ili prslina zapunjениh nešto krupnijim kalcitom, a duž pojedinih lamina se zapažaju deponovati sitnozrni agregati metaličnih minerala, moguće sulfida (Tabela 5j). Stena je mikrosparitski krečnjak.

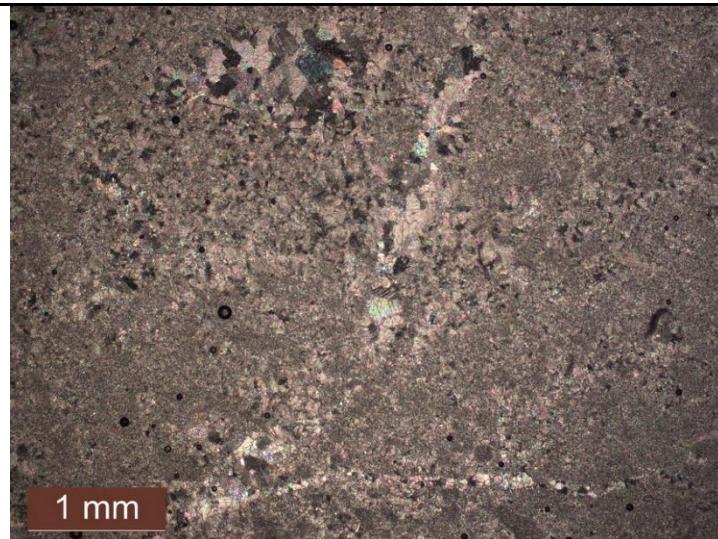
U Petničkoj pećini, stena je kristalaste strukture i masivne teksture. Izbrečirana je u izvesnom stepenu. Osnovu stene predstavlja rekristalisali mikrosparit. U njoj se zapažaju ostaci fosila, kao i delovi izgrađeni od krupnozrnijeg kalcita. Prisutne pukotine su takođe zapunjene kalcitom (Tabela 5k). Stena je rekristalisali krečnjak.

Stena je kristalaste strukture i masivne teksture u pećini Samar. Osnova stene je primarno bila mikritskog karaktera, ali je u ranodijagenskoj fazi započela dolomitizacija zbog koje je stenska masa sada većeg stepena kristaliniteta (Tabela 5l, m). Stena je ispresecana prslinama zapunjениm kalcitom, sa prisutnom silicijom u po nekim prslinama. Stena je mikritski krečnjak.

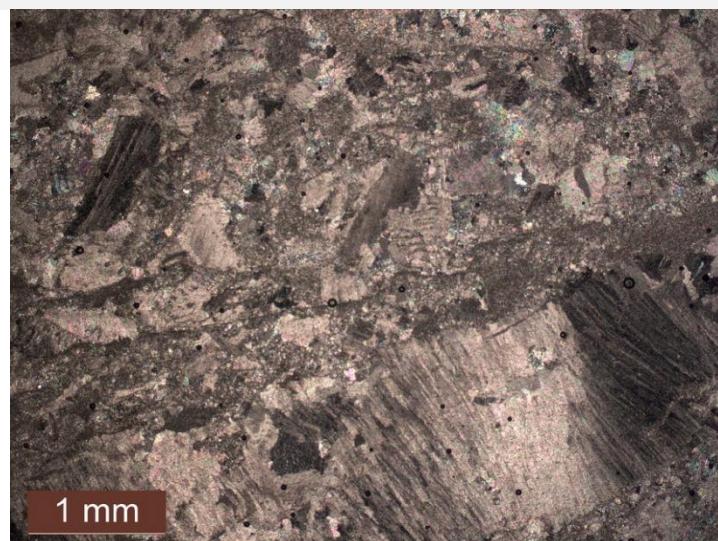
U pećini Jezava, stena je kristalaste strukture i izbrečirane teksture (Tabela 5n). Osnova stene je mikritska. Intenzivno je izbrečirana, a nastale pukotine zapunjene su krupnokristalstima agregatima kalcita. U pojedinim delovima se zapaža i proces silifikacije. Stena je izbrečirani mikritski krečnjak.

Tabela 5. Petrografska analiza uzoraka stene.

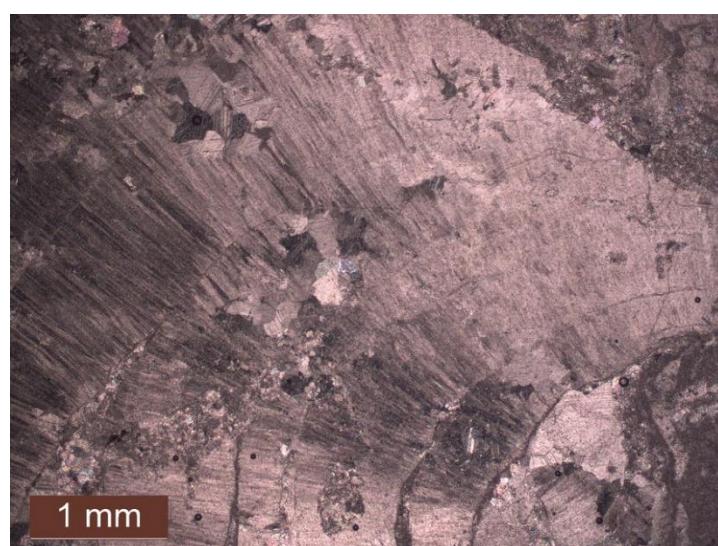


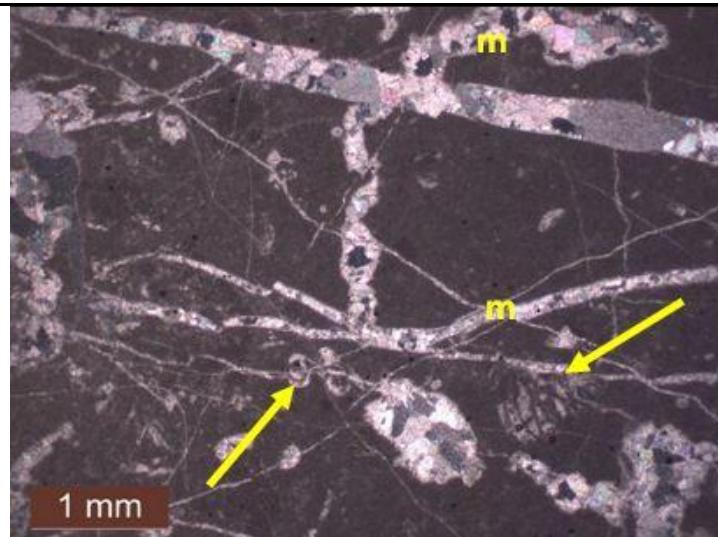


c) Degurićka pećina.
Kristalasta struktura
krečnjaka. Nehomogenost
stene ogleda se u variranju
veličine kalcitskih agregata;
xpl.

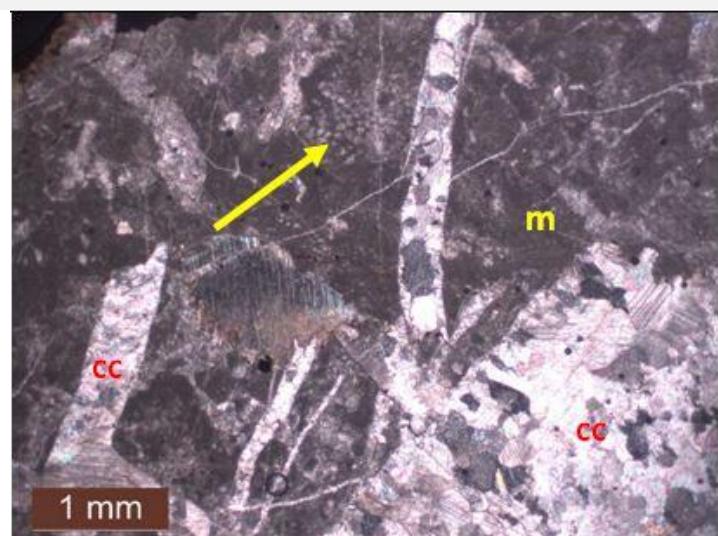


d, e) Rćanska pećina. Izgled
uzorka br. 5: d - kristalasta
struktura sa izvesnim
stepenom brečiranja; e -
izduženi agregati
karbonata raspoređeni u
vidu traka; xpl.

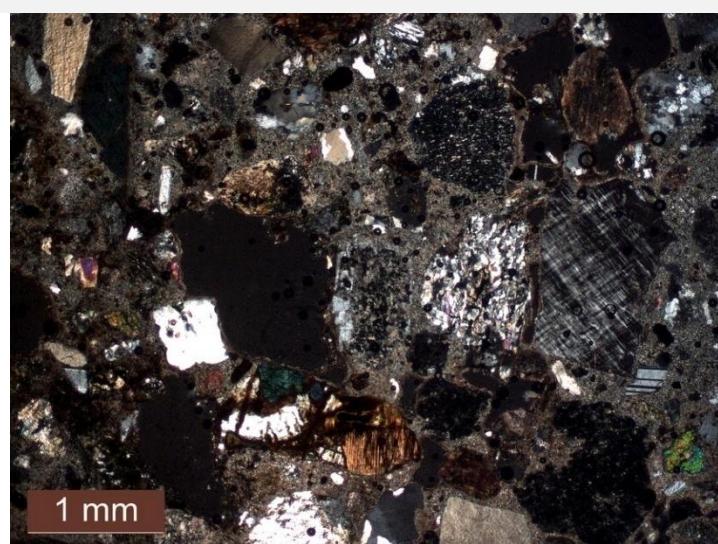




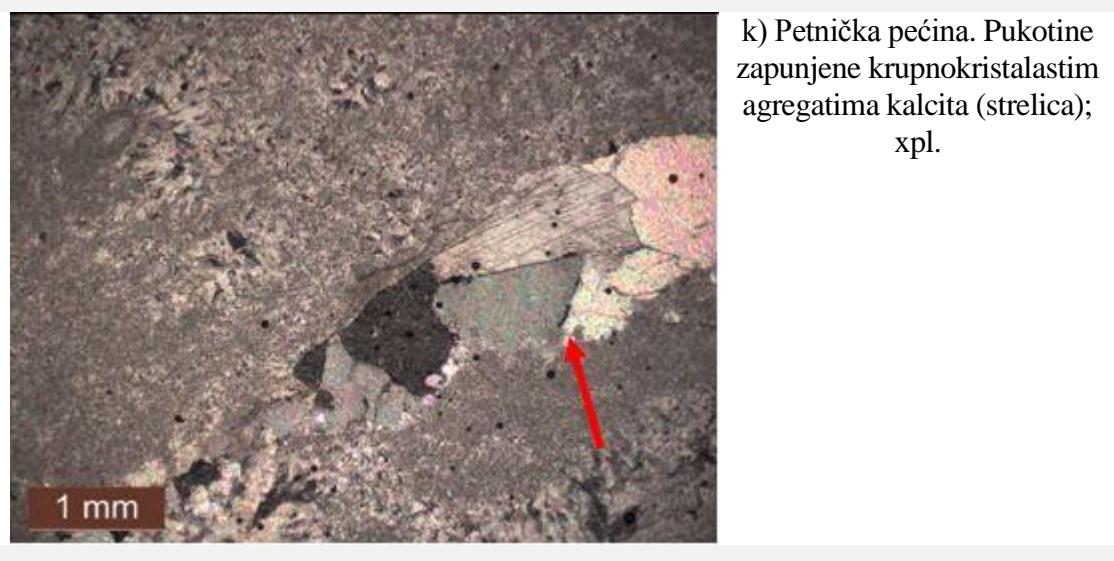
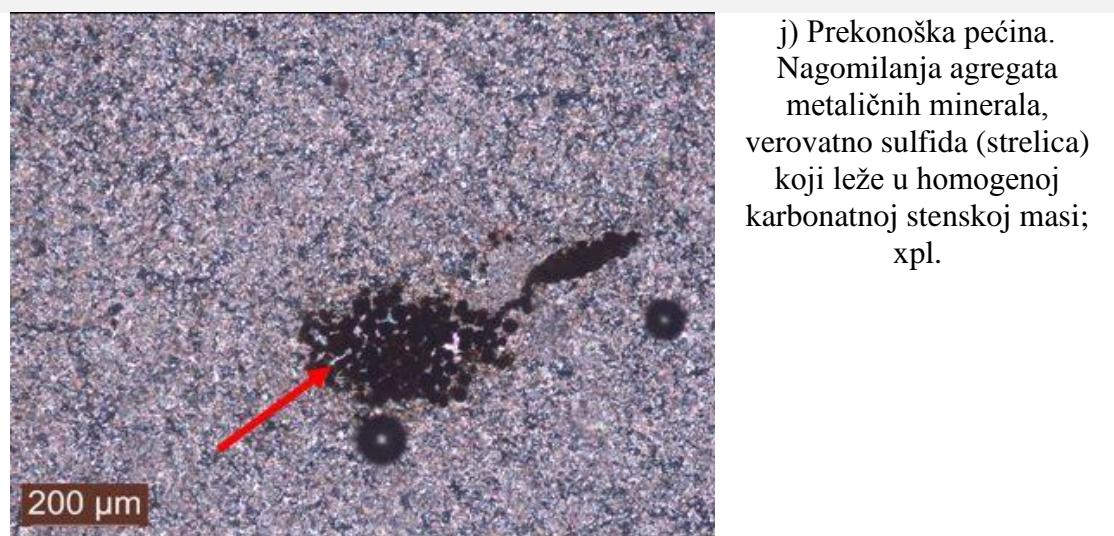
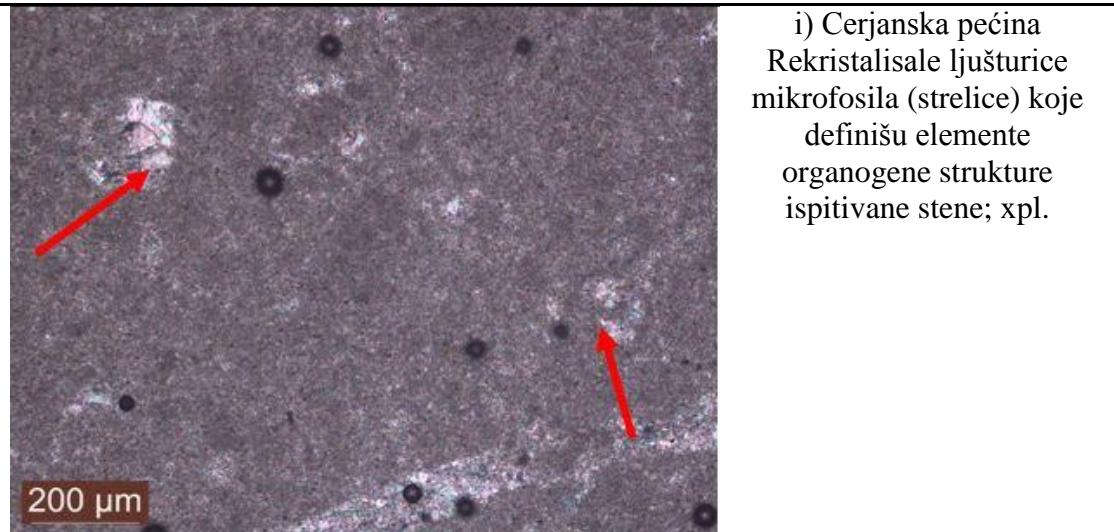
f) Pećina Vernjikica.
Mikritska osnova stene (m)
sa ostacima fosila (strelice) i
prslinama zapunjениm
krupnije kristalastim
agregatima kalcita živih
interferentnih boja; xpl.

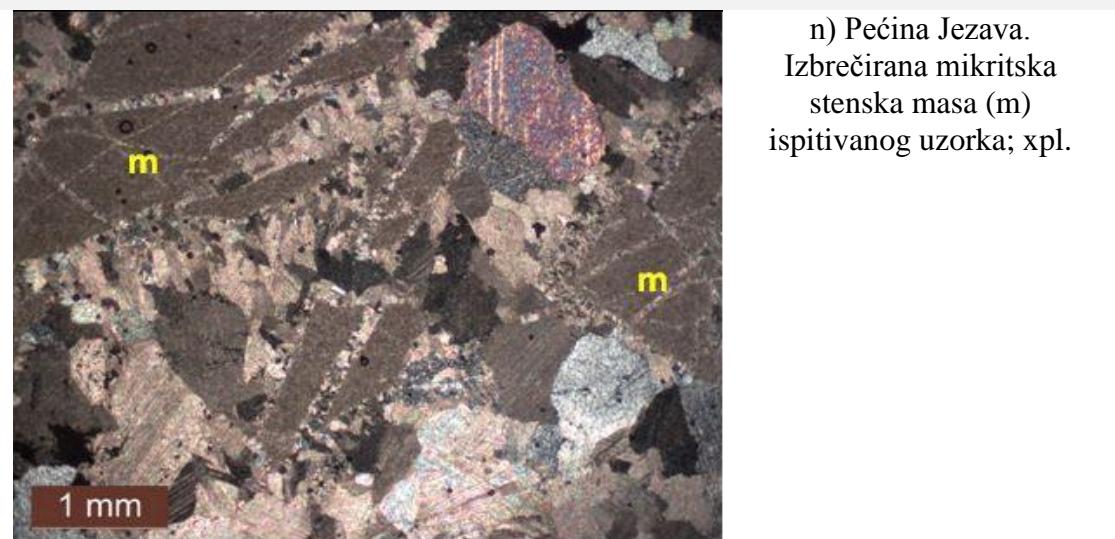
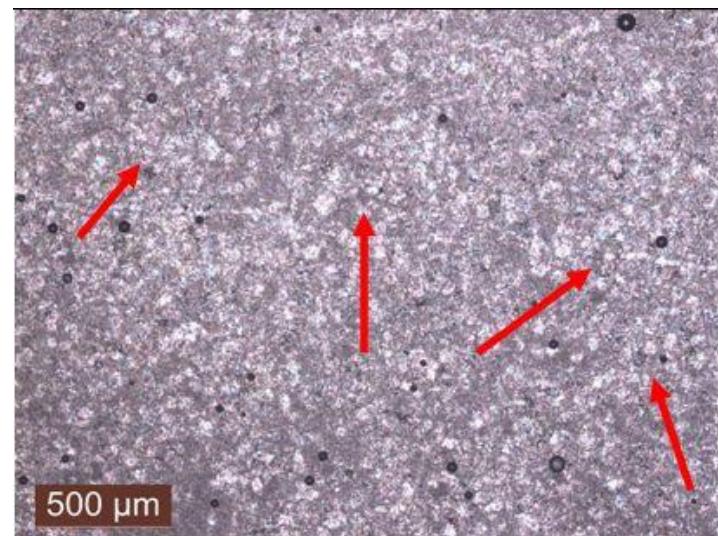
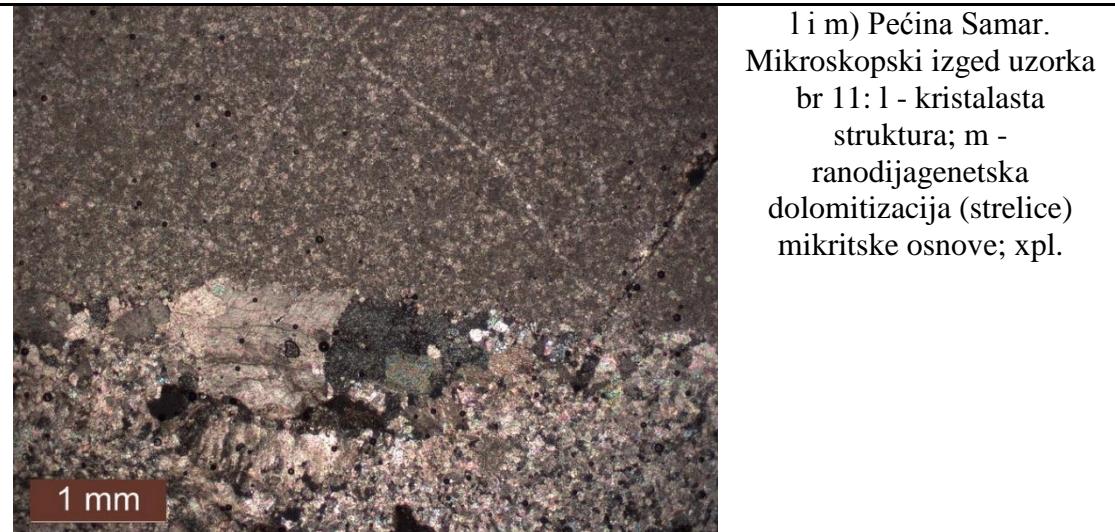


g) Pećina kod Sove.
Kristalasta struktura stene sa
mikritskom osnovom (m),
ostacima fosila (strelica)
koji lokalno definišu
organogeni karakter
strukture i krupnokristalasti
agregati kalcita (cc) u
prslinama ili
nagomilanjima; xpl.



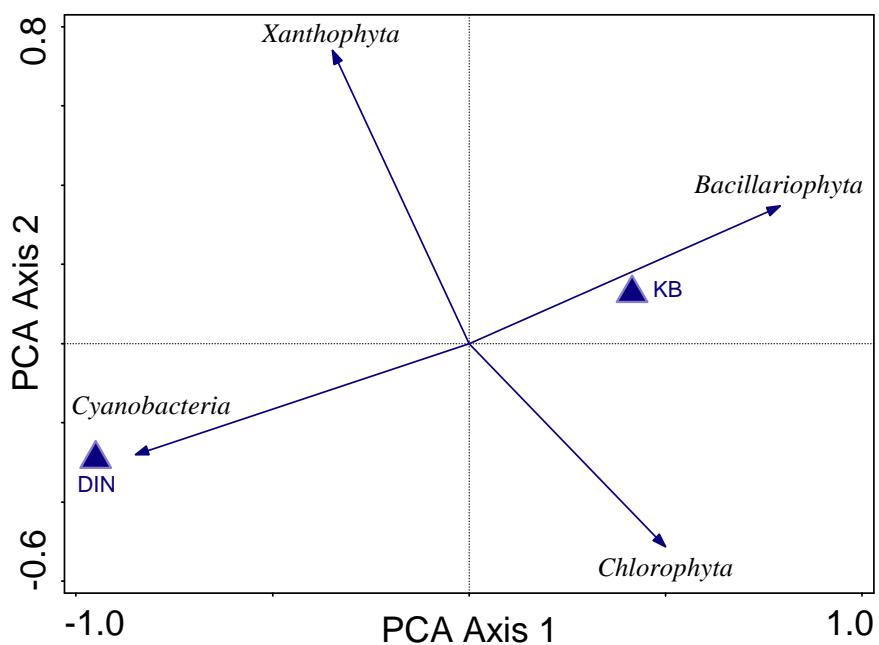
h) Lazareva pećina.
Psamitska struktura
ispitivanog peščara; xpl.





4.11. Statistička obrada podataka

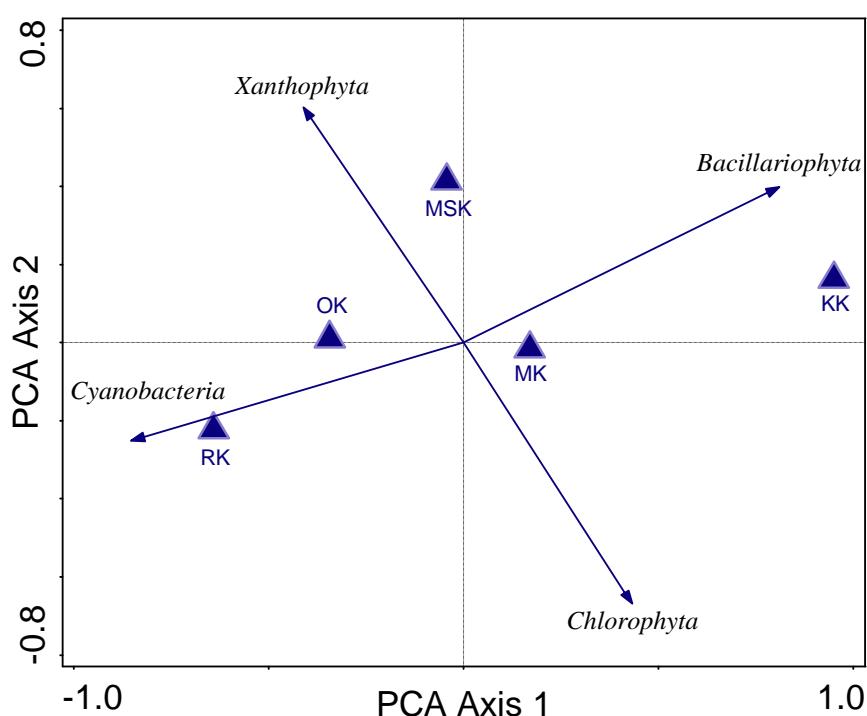
PCA na Slici 43 prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih veličina koje se odnose na geostruktturnu jedinicu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije i Karpato-balkanida. Opisne veličine predstavljene trouglovima koje se odnose na ove dve geostruktturne jedinice nalaze se na različitim stranama ordinacionog dijagrama: veličina koja opisuje geostruktturnu jedinicu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije (D) na levoj, a veličina koja opisuje geostruktturnu jedinicu Karpato-balkanida (KB) na desnoj strani. Veličina koja predstavlja geostruktturnu jedinicu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije je izraženija i pokazuje pozitivnu korelaciju sa vektorom koji predstavlja razdeo Cyanobacteria, što znači da je najviše predstavnika ovog razdela upravo zabeleženo na području Dinarida, odnosno u pećinama koje pripadaju ovoj geostrukturnoj jednici.



Slika 43. Analiza glavnih komponenti (PCA) koja pokazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta) i opisnih veličina koje se odnose na geostruktturnu jedinicu Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije (D) i Karpato-balkanida (KB).

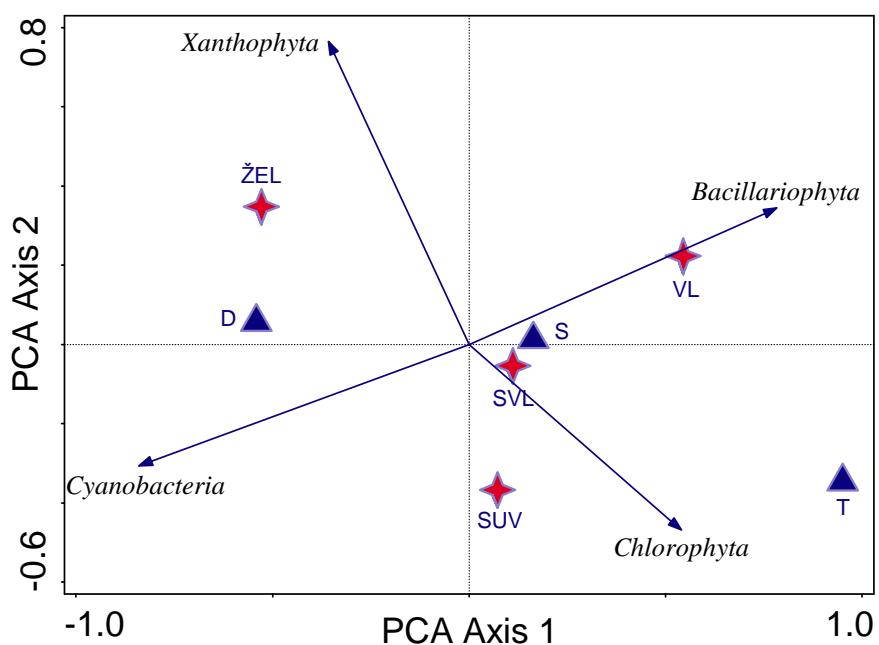
PCA na Slici 44 daje uvid u odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih varijabli koje se odnose na tipove krečnjaka koji su utvrđeni petrografskom

analizom. Na osnovu petrografske analize stenovitog supstrata zaključeno je da svi uzorci (izuzev uzorka iz Lazareve pećine) predstavljaju krečnjak koji je kategorisan u pet grupa. Ovih pet grupa se jasno izdvaja i raspoređuje duž prve PCA ose na ordinacionom dijagramu, pri čemu se sa leva na desno smenuju rekristalisali (RK), organogeni (OK), mikrosparitski (MSK), mikritski (MK) i klastični krečnjak (KK). Zapaža se da su predstavnici razdela Cyanobacteria uglavnom prisutni u pećinama čija je stena rekristalasti i organogeni krečnjak, predstavnici razdela Xanthophyta u pećinama gde je podloga mikrosparitski krečnjak, a predstavnici razdela Bacillariophyta na lokalitetima gde je prisutan uglavnom klasični, manje mikritski krečnjak. Što se tiče predstavnika razdela Chlorophyta, podjednako su zastupljeni na svim tipovima krečnjaka, osim mikrosparitskog, na kome se nalaze u nešto manjoj meri nego na ostalim.



Slika 44. PCA koja prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta) i opisnih varijabli koje se odnose na tipove krečnjaka koji su utvrđeni petrografskom analizom: RK – rekristalasti krečnjak, OK – organogeni krečnjak, MSK – mikrosparitski krečnjak, MK – mikritski krečnjak i KK – klastični krečnjak.

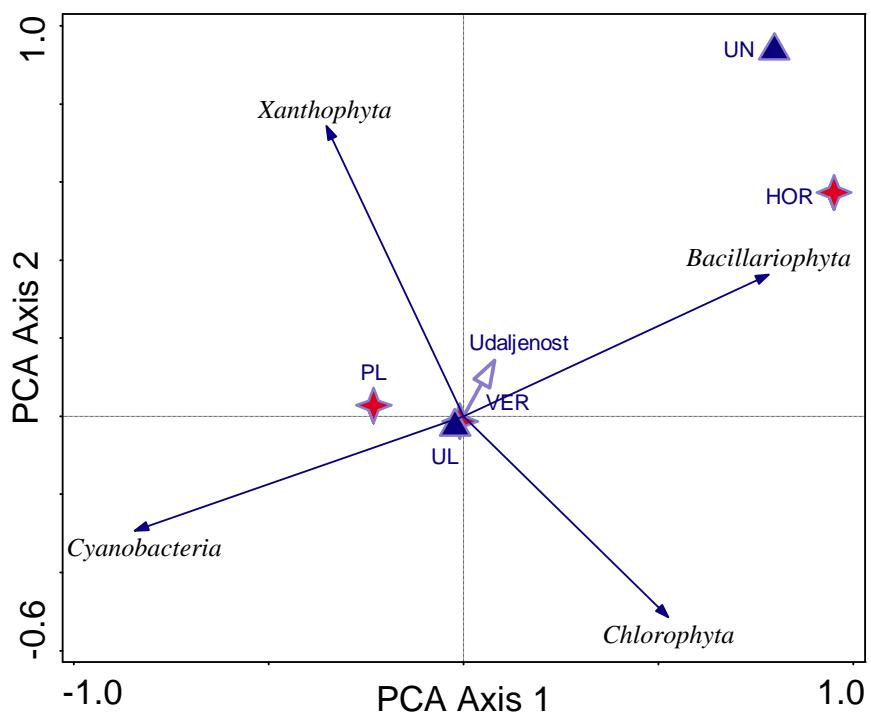
PCA analizom na Slici 45 nastojalo se utvrditi u kakvom biofilmu, kada se uzme u obzir njegova razvijenost (debljina) i vlažnost (odnosno prisustvo vode, bilo da je vezana ili samo preliva preko biofilma), dominira određeni razdeo zabeleženih fototrofnih mikroorganizama. Primećuje se da su se kategorije oba opisna karaktera biofilma manje više razdvojile duž prve PCA ose. Plavim trouglicaima predstavljene su kategorije koje se odnose na razvijenost biofilma, dok su crvenim zvezdicama predstavljene kategorije koje se odnose na prisustvo vode u biofilmu. Sa dijagrama se jasno vidi da su cijanobakterije dominantne u razvijenim biofilmovima (D), dok su predstavnici razdela Bacillariophyta i Chlorophyta pretežno dominantni u biofilmovima koji su u tankom sloju (T) razvijeni na stenovitoj površini. Kada se uzme u obzir drugi kriterijum vezan za prisustvo vode u biofilmu, zapaža se da predstavnici razdela Chlorophyta dominiraju u suvim (SUV) tankim biofilmovima, a Bacillariophyta u tankim biofilmovima preko kojih preliva voda (VL) (bilo da su u pitanju prokapne vode ili neki povremeni tok vode). Što se Cyanobacteria tiče, biofilmovi u kojima predstavnici ovog razdela dominiraju su ne samo dobro razvijeni, već su i želatinozne prirode (ŽEL), jer sadrže uglavnom veće količine vezane vode.



Slika 45. PCA koja prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta) i opisnih veličina koje se odnose na razvijenost (debljinu) i vlažnost biofilma (odnosno prisustvo vode, bilo da je

vezana ili samo preliva preko biofilma). Kategorije razvijenosti biofilma: D – razvijen biofilm, T – tanak, slabo razvijen biofilm, S – srednje razvijen biofilm. Kategorije koje se odnose na prisustvo vode u biofilmu: ŽEL – želatinozni biofilm, VL – biofilm na kome je prisutna voda, bilo da je vezana ili samo preliva preko biofilma, SUV – suv biofilm, SVL – biofilm srednje vlažnosti.

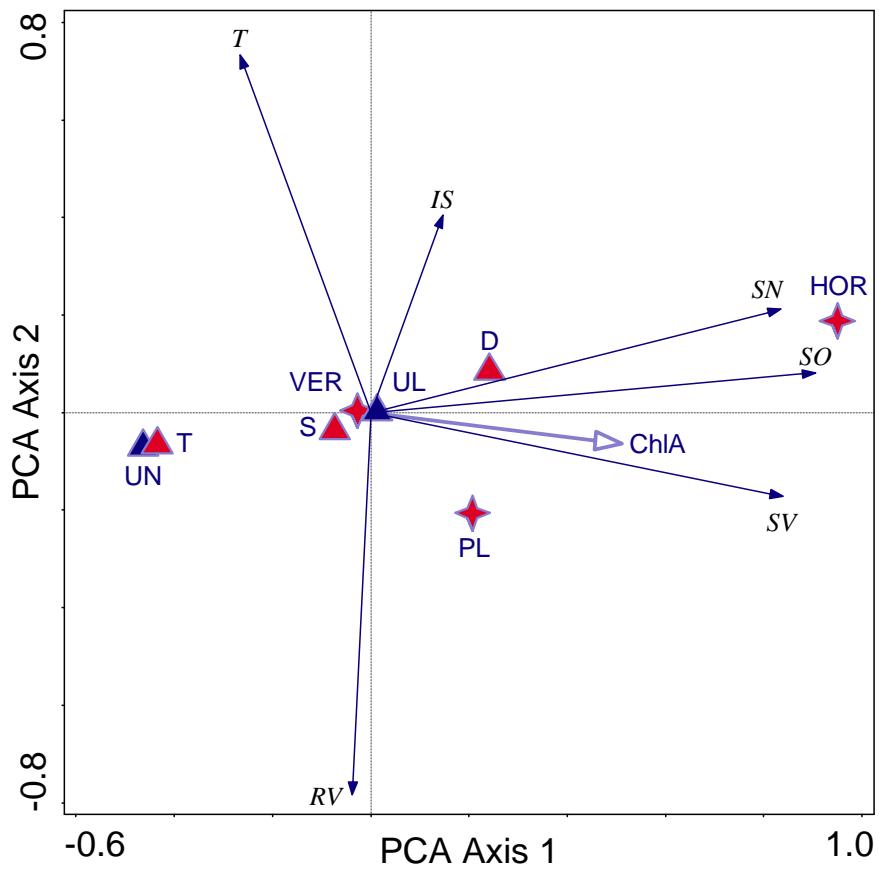
PCA na Slici 46 prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama i opisnih veličina koje se odnose na mesto uzorkovanja (ulaz i unutrašnjost pećine), položaj tačaka uzorkovanja (vertikalna i horizontalna površina, plafon pećine) i udaljenost od ulaza, odnosno reflektora, izražena u metrima.



Slika 46. PCA koja prikazuje odnos zabeleženih razdela fototrofnih organizama (Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta) i opisnih veličina koje se odnose na mesto uzorkovanja (ulaz (UL) i unutrašnjost (UN) pećine), položaj tačaka uzorkovanja (vertikalna (VER) površina, horizontalna (HOR) površina, plafon (PL) pećine) i udaljenost od ulaza odnosno reflektora izražena u metrima.

Opisna veličina koja se odnosi na ulaz pećine (UL) nalazi se u centru ordinacionog dijagrama, što znači da se na ulazu pećina nalaze predstavnici svih razdela, bez nekog posebnog izdvajanja određene grupe. Sa druge strane, u unutrašnjosti pećine (UN) dominantne su silikatne alge. Ako posmatramo položaj, odnosno da li je u pitanju vertikalna površina, horizontalna površina ili plafon pećine, najviše uzoraka u kojima su prisutni predstavnici svih grupa uzeto je sa vertikalnih površina (VER) - zato je ova opisna varijabla smeštena u centru ordinacionog dijagrama. Opisna varijabla plafon (PL) donekle koreliše sa cijanobakterijama, a horizontalna površina (HOR) sa silikatnim algama. Opisna veličina koja se odnosi na udaljenost od ulaza pećine, ili od veštačkog osvetljenja u pećinama, pokazuje pozitivnu korelaciju sa razdelom Bacillariophyta, a negativnu sa razdelom Cyanobacteria. To znači da Cyanobacteria u proseku ima više na mestima bližim ulazu, a silikatnih algi na mestima uzorkovanja dalje od ulaza.

PCA na Slici 47 prikazuje odnos, odnosno korelaciju između merenih ekoloških parametara (temperatura, relativna vlažnost vazduha, intenzitet svjetlosti), merenih parametara biofilma (sadržaj vode, organske i neorganske materije), hlorofila *a* i opisnih varijabli koje se odnose na mesto uzorkovanja, položaj tačaka uzorkovanja i razvijenost biofilma. Vektor koji se odnosi na hlorofil *a* (Chl *a*) ne pokazuje korelaciju, pozitivnu ili negativnu, sa ekološkim parametrima (T, RV i IS), dok je sa parametrima biofilma (SV, SO i SN) pozitivno korelisan. Ova pozitivna korelacija sa određenim parametrima biofilma znači uopšteno korelaciju sa ukupnom težinom biofilma, što se vidi i na osnovu pozitivne korelacije sa opisnom veličinom koja se odnosi na dobro razvijen biofilm (D). Dalje, posmatrajući odnos hlorofila *a* i položaj, odnosno horizontalnu i vertikalnu površinu, zapaža se da je koncentracija hlorofila *a* veća na horizontalnoj površini (HOR), a manja na vertikalnoj (VER) i plafonu (PL) pećine. Što se tiče poređenja ulaza i unutrašnjosti, koncentracija hlorofila *a* pokazuje negativnu korelaciju sa opisnom promenljivom koja se odnosi na unutrašnjost pećine (UN), što znači da su najniže koncentracije hlorofila *a* izmerene u unutrašnjosti pećine.



Slika 47. PCA koja pokazuje odnos između merenih ekoloških parametara (temperatura (T), relativna vlažnost vazduha (RV), intenzitet svetlosti (IS)), merenih parametara biofilma (sadržaj vode (SV), organske (SO) i neorganske materije (SN)), hlorofila *a* (Chl *a*) i opisnih varijabli koje se odnose na mesto uzorkovanja (ulaz (UL) i unutrašnjost (UN) pećine), položaj tačaka uzorkovanja (vertikalna (VER), horizontalna površina (HOR) i plafon (PL) pećine) i razvijenost biofilma (razvijen biofilm (D), nerazvijen tanak biofilm (T), biofilm srednje debljine (S)).

5. DISKUSIJA

5.1. Ekološki parametri i njihov odnos sa fototrofnom zajednicom biofilma pećina

5.1.1. Vrednosti ekoloških parametara

Vrednosti ekoloških parametara (temperatura, relativna vlažnost vazduha i intenzitet svetlosti) na ulazima pećina pod znatnim su uticajem faktora spoljašnje sredine i klasični pećinski uslovi, koji podrazumevaju stabilnu temperaturu i relativnu vlažnost vazduha, ovde izostaju. Prosečna vrednost ovih parametara na svakom lokalitetu u korelaciji je sa mesecom, odnosno sezonom u kojoj je uzorkovanje vršeno. Uticaj faktora spoljašnje sredine na variranja temperature i relativne vlažnosti vazduha je posebno analiziran kod pećina Samar i Jezava jer su uzorkovane sezonski (Tabela 2, Grafik 2). Zajednice fototrofnih mikroorganizama koje se razvijaju na zidovima ulaznog dela pećina trpe temperaturne varijacije od preko 20°C godišnje.

Zapaža se da vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha između tačaka uzorkovanja u jednoj pećini ne variraju u velikoj meri, iz razloga što su većinom tačke uzorkovanja veoma blizu (Tabela 2). Najbolji primer koji ovo potvrđuje je Prekonoška pećina (Slika 16), gde su vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha na svim tačkama uzorkovanja imale iste vrednosti. Međutim, kod pećine Vernjikica (Slika 10), Jezave (Slika 19) i Hadži Prodanove pećine (Slika 7), postoje varijacije temperature od preko četiri stepena iako su tačke uzorkovanja bile relativno blizu (Tabela 2). Ovo je pre svega posledica sezone u kojoj je vršeno uzorkovanje (leto), kada je temperatura na samom početku ulaza u pećinu viša, a naglo opada kako se ide ka unutrašnjosti. Takođe, kod pomenutih pećina, ulaz je veoma mali, pa su vrednosti temperature (T) i relativne vlažnosti vazduha (RV) pod jakim uticajem ili pećinske klime sa jedne strane ili uslova spoljašnje sredine sa druge strane. Sa druge strane, kod Rćanske pećine (Slika 9) tačke uzorkovanja su bile znatno udaljenije, ali zapaženo variranje u T je iznosilo svega $3,4^{\circ}\text{C}$. Ovo se objašnjava morfologijom ulaza pećine, jer Rćanska pećina ima jako veliku ulaznu zonu koja utiče na to da vrednosti ekoloških parametara budu ujednačenije i da se postepeno smanjuju kako se ide od ulaza ka unutrašnjosti pećine. Treba još napomenuti da su veća variranja temperature od preko deset stepeni, i relativnoj

vlažnosti vazduha zapažena kod Lazareve pećine (Slika 12, Tabela 2), a razlog je što uzorkovanje nije vršeno samo na ulazu, već i u unutrašnjosti pećine, gde vladaju uslovi karakteristični za tipično pećinsko stanište. Na vrednosti relativne vlažnosti vazduha, pored sezone u kojoj je vršeno uzorkovanje, utiču i drugi faktori. Niska vrednost relativne vlažnosti od 40% u pećini Jezava, koja je zabeležena tokom avgusta (Tabela 2), je posledica kako morfologije i karakteristika ulaza, tako i činjenice da na ulazu ove pećine nema vodenog toka. Sa druge strane, na visoku vrednost relativne vlažnosti od 95% u Petničkoj pećini verovatno utiče prisustvo vodenog toka na ulazu (Slika 17), ali i položaj same pećine. Pećina je donekle zaklonjena od uticaja svetlosti i vetra, što utiče na to da ekološki parametri budu ujednačeni.

Za razliku od temperature i relativne vlažnosti vazduha čije vrednosti često nisu pokazale velika variranja, intenzitet svetlosti (IS) značajno je varirao, kako među tačkama uzorkovanja jedne pećine, tako i između samih pećina (Tabela 2). Korelacija vrednosti ovog parametra i perioda godine u kome je vršeno uzorkovanje postoji, a takođe bitnu ulogu i na intenzitet i trajanje imaju i vremenske prilike, kao što je zabeleženo i od strane Urzi i saradnika (2010). Na vrednosti ovog parametra utiče i položaj same pećine, odnosno pre svega to da li je ulaz pećine izložen Suncu ili je na neki način zaklonjen. Na primer, ispred ulaza Božanine (Slika 5), Deguričke (Slika 8), Mandine (Slika 14) i Cerjanske pećine (Slika 15) šuma ili pojedinačno drveće prave senku, dok je ulaz Petničke pećine (Slika 17) prirodno zaklonjen od direktnog sunčevog zračenja. Ulazi nekih drugih pećina direktno su izloženi sunčevom zračenju, kao što su Hadži Prodanova i pećina Vernjikica. Iz tog razloga je vrednost intenziteta svetlosti na samom početku ulaza Hadži Prodanove pećine bila veoma visoka. Naravno, ovome je doprineo i specifičan oblik ulaza, koji je uzan, visok (Slika 7) i koji počinje procepom u steni. Kako se ide od ulaza ka unutrašnjosti pećina, intenzitet svetlosti se smanjuje. Međutim, na nekim udaljenijim tačkama uzorkovanja meren je veći intenzitet svetlosti nego na onima koje su bliže ulazu pećine, kao kod Réanske pećine, pećine Vernjikice i Cerjanske pećine. Razlog tome je eksponcija tačke uzorkovanja, odnosno neravan supstrat koji utiče da različiti delovi pećinskog zida, koji su različito orijentisani, primaju različite količine svetlosti.

5.1.2. Odnos ekoloških parametara i aerofitskih cijanobakterija i algi

Kada uzmemo u obzir pomenute ekološke parametre, rast i razvoj fototrofnih mikroorganizama u pećinama pre svega zavisi od dostupnog svetla (Martinez i Asencio 2010; Roldán i Hernández-Mariné 2009), a potom po važnosti ga slede relativna vlažnost vazduha, pa tek onda temperatura.

Prema Roldán i Hernández-Mariné (2009), kako se udaljavamo od izvora svetla, tako se diverzitet fototrofnih mikroorganizama u biofilmu, kao i debljina biofilma smanjuju. Bez obzira na to što svetlost pozitivno utiče na prisustvo pripadnika sva tri razdela (*Cyanobacteria*, *Bacillariophyta* i *Chlorophyta*) (Piano i sar. 2015), veliki broj taksona cijanobakterija i algi može da raste i da se razvija i pri nižim intenzitetima svetlosti nego što je njihova tačka zasićenja i tačka kompenzacije. Kada se uporede razdeli, primećeno je da je tačka kompenzacije niža kod silikatnih algi i cijanobakterija nego kod zelenih algi. Pomoćni pigmenti koji se sintetišu u velikoj meri utiču na to da se snižen intenzitet i promjenjen sastav svetlosti što bolje iskoristi.

Što se cijanobakterija tiče, podeljena su mišljenja o tome koja grupa preferira koji intenzitet svetlosti. Jedna od prepostavki je ta da kokoidne forme cijanobakterija bolje tolerišu nizak intenzitet svetlosti i iz tog razloga uglavnom čine veći deo zajednice aerofitskih fototrofnih mikroorganizama u pećinama (Mulec i sar. 2008). Neki autori su zaista zabeležili njihovu dominaciju u delovima pećine sa nižim intenzitetom svetlosti (Asencio i Aboal 2001; Mulec i Kosi 2008; Martinez i Asencio 2010), dok su homocitne forme cijanobakterija nađene na mestima koja su bolje osvetljena (Asencio i Aboal 2001; Martinez i Asencio 2010). Martinez i Asencio (2010) dodaju i da zbog toga kokoidne forme cijanobakterija uglavnom dominiraju u pećinama koje su dublje, nasuprot onima koje nisu duboke i gde se uglavnom sreću filamentozne forme cijanobakterija. Međutim, cijanobakterije predstavljaju grupu mikrorganizama koja je dobro prilagođena na ekstremne uslove života, pri čemu se kokodne cijanobakterije sreću ne samo u pećinama pri niskom intenzitetu svetlosti, već i na mestima gde je intenzitet svetlosti znatno viši, kao što su spomenici i različite građevinske konstrukcije (Scheerer i sar. 2009). Nasuprot trvrdnjama da kokoidne cijanobakterije preferiraju “mračnije” delove pećine, postoje i podaci prema kojima je trend obrnut. Naime, Lamprinou i saradnici (2012a) su prilikom analize biofilma zaključili da u svakoj

pećinskoj zoni koja se definiše u odnosu na intenzitet svetlosti dominira određena grupa cijanobakterija: zona ulaza se karakteriše dominacijom predstavnika kokoidnih cijanobakterija, dok u zoni nižeg intenziteta svetlosti gde ima manje vrsta dominiraju homocitne cijanobakterije. Vinogradova i saradnici (1998) beleže isti scenario, a takođe su i Cennamo i saradnici (2012) došli do zaključka da filamentozne Cyanobacteria preferiraju nizak intenzitet svetlosti, dok su neki predstavnici kokoidnih formi dokumentovani pri srednjim i visokim intenzitetima svetlosti. Ovi različiti podaci potvrđuju da cijanobakterije i alge mogu vršiti fotosintezu pri širokom spektru intenziteta svetlosti (Grobbelaar 2000) što im daje kompetitivnu prednost u hipogejskim staništima. Što se tiče odnosa homocitnih i heterocitnih formi, obično je u pećinskim staništima diverzitet homocitnih formi veći. Albertano i saradnici (2000) ovo objašnjavaju činjenicom da su cijanobakterije reda Oscillatoriales bolje adaptirane na ekstremne uslove niskog osvetljenja nego heterocitne cijanobakterije i da zato dominiraju u odnosu na njih u ovim staništima. Svakako, cijanobakterije koje fiksiraju azot imaju važnu ulogu u ovim oligotrofnim staništima (Asencio i Aboal 2011). Predstavnici Chlorophyta i Bacillariophyta preferiraju osvetljenija staništa nego predstavnici razdela Cyanobacteria, što je zaključeno na osnovu vertikalne stratifikacije ova tri razdela u biofilmu u studiji Roldán i Hernández-Mariné (2009). Primarna produkcija zelenih algi je veća na mestima koja su bliža ulazima pećina (Piano i sar. 2015), a diverzitet silikatnih algi se dovodi u vezu sa blizinom/udaljenošću od ulaza pećine (Falasco i sar. 2014).

U odnosu na temperaturu i relativnu vlažnost vazduha, mišljenja su takođe podeljena. Prema Cennamo i sar. (2012) neki predstavnici kokoidnih Cyanobacteria zabeleženi su pri niskim vrednostima relativne vlažnosti vazduha, a drugi, uglavnom taksoni filamentoznih cijanobakterija, pri visokim i konstantnim vrednostima ovog parametra. Predstavnici Chlorophyta i Bacillariophyta su osjetljivi na promene relativne vlažnosti vazduha i temperature (Czerwak-Marcinkowska i Mrozinska 2011), pri čemu obično preferiraju mesta gde su ovi parametri relativno stabilni, a gde je relativna vlažnost vazduha viša. Otporne su na isušivanje, a takođe imaju i visoku otpornost na niske temperature tokom zime, ali način na koji su adaptirane na niske temperature nije poznat (Czerwak-Marcinkowska i Mrozinska 2011).

Jedan od bitnih faktora koji utiče na rast i razvoj fototrofnih mikroorganizama može biti i voda koja se sliva niz zidove pećina ili povremeno preliva preko supstrata na kome se mikroorganizmi razvijaju. Voda je neophodna za njihovo razviće, ali takođe proliferaciji i rastu doprinose i nutrijenti koje ta voda nosi sa sobom. Prema Piano i saradnicima (2015), pozitivan efekat ovog faktora uočen je kod Cyanobacteria i Bacillariophyta. Ovi autori na osnovu studije Mulec-a (2012) zaključuju da voda koja se sliva niz zidove pećina može pozitivno uticati na kolonizaciju stenovitog supstrata od strane silikatnih algi zbog reakcije vode sa krečnjakom, pri čemu se oslobađa kalcijum koji je silikatnim algama neophodan za pričvršćivanje za površinu podloge. Što se zelenih algi tiče, zabeleženo je da prisustvo vode koja se sliva niz stenovitu površinu ima negativan efekat na zelene alge, pa je njihova gustina veća na mestima preko kojih voda konstantno ne preliva. Na primer, u studiji koja se bavi zajednicom fototrofa koja se razvija oko veštačkog osvetljenja (Borderie i sar. 2014), *Chlorella vulgaris* je zabeležena na dobro osvetljenim površinama, a silikatne alge bile su prisutne na direktnom ili difuznom svetlu, i obično su preferirale površine koje se konstantno vlaže vodom, ili ih voda povremeno prska (Czerwic-Marcinkowska i sar. 2015). Diverzitet silikatnih algi je veći na vlažnim i dobro osvetljenim mestima (Altieri i sar. 1993), a u taksoni koji preferiraju vlažnija staništa spadaju *Humidophila contenta* (navедена kao *Diadesmis contenta*), *Hantzschia amphioxys*, *Luticola mutica*, *Luticola nivalis* i *Orthoseira roseana* (Czerwic-Marcinkowska i Mrozinska 2011). Isti autori vezano za predstavnike Cyanobacteria navode da se, na primer *Aphanocapsa parietina* (navедена kao *Mycrocystis parietina*) i *Nostoc microscopicum* javljaju na vlažnijim staništima. *Nostoc* na primer dobro podnosi isušivanje, ali je za njegov rast i razvoj neophodno prisustvo vode u tečnom stanju.

Statistička analiza koja je uključila sve zabeležene taksoni, odnosno razdele, fototrofnih mikroorganizama zabeležene u svim pećinama u ovoj studiji i ekološke parametre (T, RV i IS) nije pokazala zadovoljavajuću značajnost. T, RV i IS opisali su malo varijabilnosti u podacima koji su uključili sve taksoni i sve lokalitete, tako da dijagram nije predstavljen u ovoj studiji. Na osnovu RDA analize izvedene na primeru tri pećine (Popović i sar. 2017a) RV je bila značajan faktor, pri čemu su predstavnici razdela Bacillariophyta zabeženi pri višim, a Cyanobacteria pri nižim vrednostima RV.

5.2. Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu

Sadržaj vode, organske i neorganske materije određen je u svakom uzorku biofilma, pri čemu su vrednosti ovih parametara izražene na dva načina: po jedinici površine i procentualno (Grafici 5 – 8).

Niske vrednosti sadržaja vode zabeležene su u onim biofilmovima koji su naizgled bili suvi, praškasti i u tankom sloju razvijeni na površini stenovite podloge, kao što je biofilm na tački uzorkovanja RC3 (Slika 24). Međutim, neki tanki biofilmovi su bili vlažni zbog prisustva prokapnih ili privremenih voda koje ih stalno kvase, što je uticalo na to da sadržaj vode u njima bude nešto viši. Sa druge strane, u onim biofilmovima koji su dobro razvijeni, a često i želatinozni (u njima je voda vezana zahvaljujući ekstracelularnim polimernim supstancama) vrednosti ovog parametra bile su obično visoke. U ovim biofilmovima obično su dominirale cijanobakterije sa veoma dobro razvijenim omotačima. Na sadržaj vode u biofilmu uticaj ima i godišnje doba, odnosno sezona u kojoj je uzorkovanje vršeno. Najbolji odnos ovog parametra biofilma i sezone može se videti na osnovu sezonskog uzorkovanja u pećinama Samar i Jezava (Grafici 7 i 8).

Sadržaj neorganske materije takođe prvenstveno zavisi od stepena razvijenosti biofilma, pri čemu je u tankim i slabo razvijenim biofilmovima obično manji nego u onim koji su dobro razvijeni. Poznato je da mikroorganizmi u biofilmu usled produkcije različitih supstanci i metabolita mogu da utiču na deterioraciju supstrata na kome se razvijaju. Te delove supstrata, koji se postepeno raspada vezuje EPS i akumulira u biofilmu, a pored toga i mnoge druge organske/neorganske čestice koje na biofilm dospevaju iz spoljašnje sredine. Tako u biofilmu koji je razvijeniji, ima više mikroorganizama koji mogu uticati na deterioraciju supstrata. Prilikom uzorkovanja nekih biofilmova (npr. B8, Slika 20) primećeno je puno sitnih neorganskih čestica nalepljenih sa donje strane biofilma, koje potiču od supstrata na kome se biofilm razvija. Iz tog razloga je najverovatnije sadržaj neorganske materije obično viši u biofilmovima koji su razvijeniji i deblji. Takođe, na nekim horizontalnim površinama, kao što je tačka RC2, veća količina neorganske materije potiče od mulja, odnosno zemlje koja je nataložena na toj površini.

Sadržaj organske materije primetno je bio viši u razvijenijim biofilmovima: na primer u tankom biofilmu na tački RC3 sadržaj organske materije bio je nizak (Grafik 5), dok je na nekim drugim mestima gde su cijanobakterije i alge bile razvijene u debelom sloju, sadržaj organske materije bio znatno viši.

Na Slici 47. zapaža se da su vrednosti sva tri parametra biofilma pozitivno korelisana sa promenljivom koja se odnosi na dobro razvijene biofilmove, ali i promenljivom koja označava biofilm koji se razvija na horizontalnoj površini.

5.3. Načini procene primarne produkcije i biomase fototrofnih mikroorganizama u biofilmu

5.3.1. Primarna produkcija i određivanje koncentracija hlorofila *a* u uzorcima biofilma

Primarna produkcija fototrofnih mikroorganizama često se procenjuje određivanjem hlorofila *a*. Metode kojima se određuje koncentracija hlorofila *a* su za vodene ekosisteme veoma dobro poznate, standardizovane i uglavnom se baziraju na spektrofotometriji. Prilikom istraživanja biofilmova, bilo da se oni razvijaju samo na prirodnoj steni, ili pak u/na zaštićenim prirodnim dobrima i kulturnom nasleđu, često je iz različitih razloga potrebno proceniti primarnu produkciju, koja je ekvivalent stepena razvijenosti biofilma na nekoj površini. Kada se koncentracija hlorofila *a* određuje spektrofotometrijski iz uzorka biofilma sa stenovitog supstrata, vrednosti hlorofila *a* je često potrebno izraziti po jedinici površine, po cm^2 ili m^2 . Nekada se ovim postupkom procenjuje stanje biofilma, na primer, pre i posle nekog tretmana (Bergey i sar. 2010).

Biofilmovi sa stenovitim površinama iz kojih je potrebno odrediti koncentraciju hlorofila *a* uzorkuju se na različite načine: biofilm se skida skalpelom ili četkicom sa stenovite površine ili nekim drugim instrumentom (Popović i sar. 2015a, 2017a; Underwood 1984a, b) ili se uzima deo stene na kome je biofilm razvijen (Dye i White 1991; Nagarkar i Williams 1997; Williams 1993). Postoji čak i postupak prema kome se kamenčići na kojima se nalazi biofilm stavljuju sa etanolom zajedno u plastičnu kesu koja može dobro da se zatvori (Bergey i sar. 2010), nakon čega se hlorofil *a* odmah ekstrahuje mučkanjem. Na ekstrakciju hlorofila utiču skladištenje i način čuvanja

uzorka. Preporučuje se da se analiza hlorofila *a* odradi u periodu od 12 h od trenutka uzorkovanja, ali se uzorci mogu skladištiti i do 24 h na sobnoj temperaturi ili u frižideru. Ne preporučuje se skladištenje duži vremenski period pri navedenim uslovima (koncentracija hlorofila *a* bi se smanjila), ali u zamrznutom stanju uzorci se mogu čuvati i preko mesec dana (Nagarkar i Williams 1997). Oni koji su skladišteni na -20 °C, čak i posle mesec dana imali su sličnu koncentraciju hlorofila *a* kao i sveži uzorci. Ekstrakcija hlorofila *a* može zavisiti i od rastvarača koji se upotrebljava, vremena tretiranja rastvaračem i temperature rastvarača. Rastvarači koji su korišćeni ili se koriste za ekstrakciju hlorofila *a* su aceton, mešavina hloroform-a i metanola, metanol i etanol, pri čemu je metanol najefikasniji (Nagarkar i Williams 1997). Ipak, zbog toksičnosti i značajnih negativnih efekata po ljudsko zdravlje, metanol se jako retko upotrebljava, dok se etanol najčešće koristi. Efikasnost ekstrakcije povećava se sa zagrevanjem rastvarača. Zagrevanje optimizuje ekstrakciju, naročito kada su u uzorku prisutni predstavnici cijanobakterija i zelenih algi. Ekstrakcija hlorofila *a* je specifična za svaki takson, pa za određene taksonе treba znati i koji rastvarač koristiti, kao i koliko dugo proces ekstrakcije treba da traje (Nagarkar i Williams 1997). Kada su u pitanju biofilmovi, diskutabilno je da li je moguće u potpunosti ekstrahovati hlorofil *a* i potrebno je naći način da ekstrakcija bude što efikasnija (Prieto i sar. 2004).

Pored spektrofotometrijske metode, u novije vreme u upotrebi su uređaji (najčešće fluorimetri) koji *in situ* određuju koncentraciju hlorofila *a* na stenovitoj površini. Eggert i saradnici (2006) su za određivanje koncentracije hlorofila *a* koristili fluorimetar koji može da meri koncentraciju ovog parametra u rasponu od 0 do 400 mg Chl *a*/m², što je omogućilo preciznu procenu primarne produkcije kod veoma tankih biofilmova koji su tek u početnoj fazi razvića. Piano i sar. (2015) su koncentraciju hlorofila *a* merili uređajem BenthоТorch (fluorimetar) koji na osnovu pigmenata može da pravi razliku između Cyanobacteria, Chlorophyta i Bacillariophyta.

Zbog upotrebe različitih načina uzorkovanja, pripreme uzorka, načina ekstrakcije, pa i upotrebe različite metodologije za ekstrakciju hlorofila *a* (Nagarkar i Williams 1997), različite studije su teško uporedive.

Kao što je prikazano na Slici 47 koncentracija hlorofila *a* pozitivno koreliše sa težinom biofilma uopšte (odnosno sa sva tri parametra biofilma), između ostalog i sa sadržajem organske materije i sadržajem vode. Niske vrednosti hlorofila *a* generalno su

zabeležene na tačkama uzorkovanja gde je biofilm bio tanji, kao i u unutrašnjosti pećine, dok je koncentracija u debljim biofilmovima bila veća. Najviše vrednosti ovog parametra su između ostalog zabeležene i na horizontalnim površinama (RC2, R6). Prema Knott i saradnicima (2004) na horizontalnim površinama nalazi se obično više ćelija cijanobakterija i algi nego na vertikalnim. Deblji biofilmovi bili su korelisani i sa intenzitetom svetlosti. Međutim, kao što se vidi na Slici 47, korelacija između intenziteta svetlosti i koncentracije hlorofila *a* nije uočena, odnosno ugao koji zaklapaju vektori koji se odnose na hlorofil *a* i intenzitet svetlosti gradi približno 90 stepeni. Nepostojanje korelacijske veze između ova dva parametra zapazili su i Mulec i saradnici (2008). Koncentracija hlorofila *a* iz biofilma iz unutrašnjosti pećine bila je veoma niska, nasuprot vrednostima zabeleženim od strane Mulec i saradnika (2008) gde je lampenflora uglavnom pokazivala veće koncentracije hlorofila *a* po jedinici površine, u odnosu na ulazni deo pećine. Ipak treba imati u vidu da je biofilm u Lazarevoj pećini oko veštačkog osvetljenja bio tanak i slabo razvijen, i u velikoj meri razvijen u stenovitom supstratu, što je uticalo na uzorkovanje, a samim tim i količinu biofilma iz koje je rađena ekstrakcija hlorofila *a*.

Uzimajući u obzir sezonsku dinamiku na primerima pećina Samar i Jezava (Grafik 4), koncentracija hlorofila *a* imala je najniže vrednosti tokom avgusta, a najviše tokom marta kada su biofilmovi bili razvijeni i dobro hidratisani. Prema McKew i saradnicima (2011) fluorescencija hlorofila *a*, koja je pokazatelj vijabilnosti ćelija, manja je kod isušenih sedimenata, a veća kod onih koji su hidratisani. Za pravilno funkcionisanje ćelija cijanobakterija i algi neophodna je voda, jer se struktura intracelularnih molekula, kao i ćelijske membrane održava pravilnom hidratacijom. Mnogi mikroorganizmi, među kojima je i veliki broj algi, ne mogu aktivno regulisati sadržaj vode u ćelijama, što često dovodi do narušavanja pravilnog funkcionisanja ćelija. U periodima nedostataka vode stopa fotosinteze je niža (Karsten i Holzinger 2012), a ćelije cijanobakterija i algi nastoje da prežive nepovoljne uslove, što vodi do toga da reprodukciju svode na minimum. Neke grupe organizama tokom suše mogu aktivno da regulišu vodni status, minimalizujući oštećenja i brzo popravljujući ona koja su već nastala (Holzinger i Karsten 2013). I cijanobakterije, a i mnoge zelene alge poseduju određene, ali generalno slabo poznate mehanizme pomoću kojih preživljavaju ove izuzetno nepovoljne uslove (Kranner i sar. 2008; Potts i sar. 2005, Holzinger i

Karsten 2013). Kada nastupi povoljan period i kada voda postane ponovo dostupna, ćelije mikroorganizama nastavljaju sa svojim normalnim rastom i razvojem. Zato je, zbog većeg broja aktivnih ćelija, koncentracija hlorofila *a* u hidratisanim biofilmovima znatno veća (to se primećuje i sa Slike 47, gde vektor koji predstavlja hlorofil *a* pokazuje najveću korelaciju sa sadržajem vode u biofilmu).

Prieto i saradnici (2004) su, kako bi procenili primarnu produkciju, pored analize hlorofila *a*, procenu radili na osnovu enzimske aktivnosti mikroorganizama fluoresceindiacetat hidrolizom. Neki enzimi, kao što su proteaze, esteraze i lipaze, kada su udruženi sa živim organizmima katalizuju reakciju hidrolize pri čemu se produkuje svetlo žuta boja koja je najjača onda kada je enzimska aktivnost najveća. Iako je ova metoda brza i jednostavna, ipak nije najpouzdanija za procenu biomase algi sa stenovitim površinama. Takođe, primarna produkcija se može procenjivati i preko promene boje nastale usled aktivnosti respiratornih enzima (Welton i sar. 2005). Kvantifikacija se može vršiti i preko raznih bioloških molekula kao što su proteini, fosfolipidi i nukleinske kiseline. DNK analitičke metode uglavnom ne podrazumevaju kvantifikaciju, ali je i to moguće prilikom korišćenja FISH (fluorescentna in situ hibridizacija) koja podrazumeva korišćenje fluorescentnih proba koje se vezuju za gene (Welton i sar. 2005).

5.3.2. Određivanje brojnosti i biomase fototrofnih mikroorganizama u biofilmu

Kvalitativna analiza nam daje podatak o diverzitetu cijanobakterija i algi u biofilmu, a od interesa je znati koji taksoni su u biofilmu dominantni, subdominantni ili retki. Već prilikom pregleda biofilma svetlosnim mikroskopom, može se zaključiti koji takson dominira, a ponekad se to može prepostaviti i na osnovu boje biofilma, što će biti objašnjeno u sledećem poglavljju. Što se ostalih taksona tiče, nekada možemo vizuelno proceniti njihovu relativnu zastupljenost, kao što je to urađeno u Božaninoj pećini dodeljivanjem brojeva od 1 – 5 svakom taksonu (Popović i sar. 2015a). Međutim, nekada je od koristi odrediti brojnosti svih prisutnih taksona u uzorku, odnosno njihovu abundancu, kao i njihove biomase pored ukupne biomase uzorka.

Prvo, treba imati u vidu da se brojanje ćelija cijanobakterija i algi na neprozirnim površinama može vršiti direktno pomoću elektronskog i epifluorescentnog

mikroskopa (Welton i sar. 2005). Ovo je brza i nedestruktivna metoda koja se, kada je u pitanju fluorescentni mikroskop, zasniva na fluorescenciji hlorofila *a*. Problem može da nastane onda kada u biofilmu postoji veći broj oštećenih ćelija kod kojih se fluorescencija hlorofila *a* ne detektuje (Prieto i sar. 2004).

Razne vrste komorica koje podrazumevaju taloženje uzorka, pre svega se koriste za brojanje ćelija cijanobakterija i algi iz uzorka vode, ali nalaze primenu i kod uzorka biofilma. Nakon taloženja mikrorganizama određuje se njihova abundanca, a nakon primene geometrijskih aproksimacija, i biomasa svakog taksona posebno, kao i ukupna biomasa svih taksona algi i cijanobakterija u datom uzorku. Upotreba ovih komorica u svrhe određivanja biomase fototrofnih mikroorganizama iz biofilma prvo podrazumeva uzorkovanje biofilma sa neke podloge (grebanjem, struganjem), homogenizaciju u vodi, a zatim taloženje određene zapremine uzorka i brojanje cijanobakterija i algi. Welton i saradnici (2005) su na uzorcima biofilma sa građevinskih konstrukcija koristili Helber-ovu komoricu koja je prvobitno namenjena brojanju bakterijskih ćelija (Collins i Lyne 2004). Bez obzira na to, autori su zaključili da je ova komorica možda čak i pogodnija za brojanje ćelija algi ili spora gljiva, s obzirom da je tada moguće koristiti manje uvećanje na mikroskopu nego što je to slučaj sa bakterijama. Debnath i saradnici (2009) su homogenizovali biofilm koji se razvija na mestima isticanja termalnih izvora i taksoni brojali Sedgwick-Rafter-ovom komoricom, nakon čega su na osnovu procenta koji određen takson zauzima u odnosu na ukupan broj izbrojanih taksona, dodeljivali opisne karakteristike – redak (manje od 1%), prisutan (1-10%) ili veoma zastupljen (više od 30%). Bryanskaya i saradnici (2006) su sa druge strane, na uzorcima istog tipa biofilma, koristili Goryaev-u komoricu i određivali kako brojnost, tako i biomasu. U slučaju fitoplanktonskih uzorka najčešće se koristi metoda po Utermöhl-u (1958).

Primena Utermöhl-ove metode u ovoj studiji nije dala pozitivan ishod. Kao što su predložili Welton i saradnici (2005) uzorci biofilma rastvoreni su u vodi (pri čemu se vodilo računa da bude poznata kako masa biofilma, tako i zapremina vode u kojoj je uzorak rastvaran). Treba voditi računa koji deo (ili delovi) biofilma će biti homogenizovan, kako bi se obuhvatila cela fototrofna zajednica. Zatim je deo rastvora (poduzorak određene zapremine) taložen u komorici za brojanje cijanobakterija i algi. Međutim, rastvaranje biofilma u vodi nije bilo u potpunosti moguće, pre svega zbog

lepljivih svojstava EPS-a (Rossi i De Philippis 2015), koja utiču na to da se ćelije mikroorganizama istog ili različitih taksona drže zajedno. Usled „lepljenja“ ćelija mikroorganizama za zidove suda u kome se vrši homogenizacija, dolazi do gubitka uzorka. U toku brojanja, zapaža se veliki broj slepljenih ćelija mikroorganizama, a prisutan je i veliki broj drugih čestica organske ili neorganske prirode, koje maskiraju određene taksone. Brojanje ćelija mikroorganizama u komorici je otežano i iz razloga što dominantni fototrofi biofilma uglavnom imaju veoma male dimenzije (pretežno kokoidne forme). Mikroskopski preparati koji su napravljeni u svrhu određivanja brojnosti i biomase u ovoj studiji takođe su imali neke od navedenih mana, ali su imali i prednosti. Prednost je prvenstveno način pripreme biofilma pre pravljenja preparata, koji je podrazumevao sušenje i dobru homogenizaciju veće količine uzorka, a zatim odvajanje tačno određene mase za preparat. Ovako pripremljen biofilm se dobro i jednak raspoređivao na mikroskopskoj pločici. Brojanje je bilo otežano jedino u slučaju kada se u biofilmu nalazio veći broj čestica različitog neorganskog i/ili organskog porekla koje maskiraju ćelije mikroorganizama.

Retka pojava je bila da isti takson ima i najveći broj jedinki, ćelija i biomasu, osim ako isključivo on dominira u biofilmu, kao što je slučaj sa *Asterocapsa* cf. *purpurea* na tački D3 (Grafik 28), *Trebouxia* sp. na tački V2 (Grafik 30) i *Desmococcus olivaceus* na tački V4 (Grafik 30). Sa druge strane, na tačkama D1 i D4, najveće vrednosti broja ćelija, jedinki i biomase zabeleženi su kod različitih taksona. U tom pogledu interesantan je biofilm sa tačke D4 (Grafik 28). Najveći broj jedinki na ovoj tački zabeležen je kod taksona *Asterocapsa* cf. *purpurea*, koja se najčešće sreće kao jednoćelijska cijanobakterija, a redje je veći broj ćelija obavljen zajedničkim omotačem (različiti stadijumi). Sa druge strane, jedinke *Gloeocapsa nigrescens* uglavnom imaju veći broj ćelija koje su okružene mukoznim omotačem, pa je upravo kod ovog taksona zabeležen najveći broj ćelija. Oba navedena taksona koja su imala veliki broj i ćelija jedinki dominirali su u biofilmu. Međutim, *Nostoc commune* sa samo jednom jedinkom koja ima veliki broj ćelija (po dimenzijama većih od ćelija prethodna dva taksona) imao je najveću biomasu. Isto se zapaža i na tački V1 (Grafik 30), gde u svakom pogledu dominira *Trebouxia* sp., ali bez obzira na mali broj jedinki u odnosu na ovu zelenu algu, zbog dimenzija ćelije, *Orthoseira roseana* imala je najveću biomasu. U Degurićkoj pećini, kokoidne cijanobakterije dominiraju u pogledu biomase (Grafik 28), što je i

očekivano s obzirom na to da je njihov diverzitet na svim tačkama najveći (Grafik 15). Sa druge strane, u pećini Vernjikica gde je zajednica fototrofnih mikroorganizama veoma raznolika, u zavisnosti od tačke uzorkovanja, po biomasi dominiraju predstavnici različitih razdela (sva četiri razdela su zastupljena, Grafik 17). Na tački D1 gde je izračunata najveća biomasa u Degurićkoj pećini, takođe je zabeležen i visok sadržaj vode u biofilmu (Grafik 5), koji je posledica velikog broja kokalnih predstavnika cijanobakterija sa dobro razvijenim EPS-om, ali i viša koncentracija hlorofila *a* (Grafik 3). U pećini Vernjikica najveća koncentracija hlorofila *a* nije izmerena na tački V5 gde je izračunata najveća biomasa, već na tački V2 (Grafik 3), ali se sadržaj organske materije isticao i imao je više vrednosti u odnosu na ostale parametre biofilma (Grafik 5).

5.4. Biofilm i njegove karakteristike

5.4.1. Karakteristike biofilma, boja i izgled

Studije koje se bave biofilmovima i zajednicom aerofitskih cijanobakterija i algi u njima, više pažnje posvećuju analizi diverziteta fototrofnih mikroorganizama, a manje samom izgledu, strukturi i teksturi biofilma. U ovoj studiji, biofilmove smo kartategorisali na više načina. Na osnovu stepena razvijenosti, razlikuju se dobro razvijeni biofilmovi, srednje i slabo razvijeni, odnosno tanki biofilmovi. Na osnovu sadržaja i ili prisustva vode, razlikuju se želatinozni, suvi, biofilmovi srednje vlažnosti i oni preko kojih preliva voda (vlažni biofilmovi). Neki su pored vertikalnih površina bili razvijeni i na horizontalnim površinama ili plafonu pećina, što je uticalo na njihov izgled. Pored ovih karakteristika, jedna od interesantnih bila je i boja biofilma. Na osnovu pomenutih parametara, u ovoj studiji je napravljena razlika između dve grupe biofilmova: 1) dobro i srednje razvijeni biofilmovi, koji su često želatinozni i 2) slabo razvijeni biofilmovi koji se na stenovitom supstratu razvijaju u tankom sloji, koji mogu biti ili suvi ili vlažni od prisustva vode koja preko biofilma preliva stalno ili povremeno. Za obe grupe, koje će biti objašnjene u tekstu ispod, dati su podaci o bojama i dominantnim vrstama koje doprinose takvoj obojenosti biofilma.

Dobro razvijeni biofilmovi koji su često bili i želatinozni (Grupa 1) bili su veoma raznovrsni u svojoj obojenosti i sastavu vrsta.

Na većini mesta uzorkovanja boja ovih biofilmova varirala je od zelenih do tamnijih nijansi (Slike 20 – 35). Prilikom mikroskopskih analiza uzoraka biofilma, zapaženo je da u biofilmovima koji su bili tamnozelene, braonkaste ili tamne boje, uglavnom dominiraju cijanobakterije, ne retko kokoidne forme: B1 (Slika 20), R1 (Slika 21), HP3 (Slika 22), sve tačke uzorkovanja u pećini Degurić (Slika 23), V3 (Slika 25), L3 (Slika 27), M4 (Slika 29), C1, C5 (Slika 30), PD1, PD2, PD4 (Slika 31), PG4 (Slika 32), PE1 (Slika 33) i S4 (Slika 34). Ova tamna boja i potiče od prisustva velikog broja različitih taksona cijanobakterija, odnosno od kombinacije različitih pigmenata koje ovi taksoni produkuju. Cennamo i saradnici (2009) su prilikom ispitivanja bioinkrustacija na crkvi Sv. Marije u mestu Pizzo Calabro na jugu Italije, uzorkovali zelene i tamne biofilmove u kojima su dominirale cijanobakterije (homocitne u zelenom, kokoidna forma *Gloeocapsa* sp. u tamnom). Izuzetno tamna, odnosno crna boja biofilma na tački HP5 (Slika 22), poticala je od samo jedne prisutne kokoidne cijanobakterije *Chroococcidiopsis kashayi* koja se usled odgovarajućih mikroklimatskih uslova razvila u debelom sloju na stenovitoj površini. Cijanobakterije roda *Chroococcidiopsis* su prokariotski fotosintetički mikroorganizmi koje karakteriše velika otpornost na isušivanje, ionizujuće zračenje i radijaciju. Često ih je moguće naći u predelima gde vladaju ekstremni uslovi života: pustinja Atakama, Suve Doline na Antarktiku (Baqué i sar. 2013). Zbog adaptacija na ekstremne uslove života, a i zbog života na staništima koja bi mogla biti slična površini Marsa, ovi mikroorganizmi su pogodni za najrazličitije astrobiološke eksperimente (Billi i sar. 2013; Grilli-Cailola i Billi 2007). Na primer, Baqué i saradnici (2013) su vršili eksperimente na ovom rodu cijanobakterija izlažući je vakuumu, atmosferi Marsa, temperaturnim ekstremima i UVC radijaciji.

Ukoliko su biofilmovi sadržali heterocitne cijanobakterije u velikom broju (velika brojnost i dominacija u biofilmu), biofilmovi su obično bili dobro razvijeni i želatinozni, a boja je obično bila braon (npr. R7 (Slika 21), S2 (Slika 34), J2 (Slika 35)). Veliki broj heterocitnih cijanobakterija ima omotače žuto-braon boje (predstavnici rodova *Hassalia*, *Nostoc*, *Scytonema*, *Tolypothrix*, itd.) koja potiče od prisustva scitonemina. Scitonemin formira stabilni, zaštitni omotač koji apsorbuje oko 90%

sunčevog zračenja (Balskus i Walsh 2008; Balskus i sar. 2011), hemijski je stabilan i dugo opstaje u biofilmovima u kojima ima cijanobakterija (Pattanaik i sar. 2007).

Pored razvijenih biofilmova zelene, tamnozelene obojenosti, na mnogim tačkama uzorkovanja u ovoj studiji zapaženi su biofilmovi jarkih boja: ljubičasti, plavi, sivi, narandžasti, crveni, itd. Prilikom posmatranja biofilma koga karakteriše jarka obojenost, primećena je dominacija uglavnom jednog taksona, od koga boja i potiče.

Biofilmove sa nekoliko tačaka uzorkovanja karakterisala je ljubičasta boja. Što se tiče tamno ljubičastog biofilma na tački B7 (Slika 20), zaključeno je da boja potiče od cijanobakterije *Gloeocapsa nigrescens*, koja je u biofilmu bila prisutna u velikom broju u različitim stadijumima razvića. Ljubičasta boja svih ostalih biofilmova na tačkama R3 (Slika 21), DG2 (Slika 23), PE2 (Slika 33), ali i jarkocrvena na tački PG2 (Slika 32), potiču od prisustva velikog broja cijanobakterije *Gloeobacter violaceus*. Rod *Gloeobacter* je jedan od najvažnijih rodova cijanobakterija koji se koristi u evolucionim studijama ovog razdela, a koga karakteriše jednostavna morfologija i ćelijska struktura. Ovaj monotipski rod je izdvojen od ostalih rodova cijanobakterija zbog prisustva neobične strukture fotosintetičkog aparata i nedostatka tilakoida u ćeliji (Mareš i sar. 2013). U prirodi često u epilitskoj želatinoznoj cijanobakterijskoj masi ljubičaste boje dominira ovaj takson (Komárek i Anagnostidis 1998). Međutim, u našoj studiji *Gloeobacter violaceus* je takođe bio dominantan i u jednom uzorku jarko crvene boje. Radeći ispitivanja ovog taksona u kulturama Mareš i sar. (2013) su istakli da se varijabilnost u boji kod mlađih kultura može objasniti različitim odnosom fikobilina, što zavisi od uslova u kojima cijanobakterija raste i od fiziološkog stanja ćelija. Sa druge strane, u starijim kulturama, fikobilini se degradiraju, dok se karotenoidi koji daju narandžastu obojenost nakupljaju. Crvena obojenost u na tački PG2 vodi do zaključka da ovu, a i mnoge druge cijanobakterije treba ispitivati sa različitih geografskih područja, jer se verovatno radi o drugom morfotipu.

Na tački uzorkovanja PG1 (Slika 32), bio je prisutan dobro razvijen želatinozan biofilm narandžaste boje, koja potiče od prisustva velikog broja cijanobakterija *Gloeocapsa biformis* i *Gloeocapsa kuetzingiana*.

Veoma interesantan biofilm mastilo plave boje bio je prisutan na tački C5 (Slika 30). Biofilm nije bio karakteristično epilitski (nije bio želatinozan, praškast ili suv), već je bio kompaktan i ravnomerno razvijen na steni, u koju je delimično i urastao, tako da

se dominantna cijanobakterija koja je ovde zabeležena ne može okarakterisati kao čisto epilitska forma. Boja potiče od jednog neidentifikovanog predstavnika roda *Leptolyngbya* (*Leptolyngbya* sp. 1), koga karakteriše prisustvo omotača mastilo plave boje različitih intenziteta, na koje se taloži kalcijum karbonat.

Biofilm sive boje koji je bio prisutan na tački BG3 (Slika 28) isticao se među ostalim tačkama uzorkovanja, gde je dominirala zelena boja. U ovom slučaju boji ovog biofilma ne možemo pripisati dominaciju jednog taksona, već prisustvo velikog broja predstavnika razdela Cyanobacteria i Bacillariophyta. Lamprinou i sar. (2009) su zabeležili da sivkastu patinu formira *Chlorogloea* sp., što je upravo predstavnik cijanobakterija koji je bio prisutan i u ovom uzorku.

U biofilmu smeđe-lila boje na tački C3 (Slika 30), u pogledu broja taksona, dominirale su silikatne alge.

Na mnogim mestima uzorkovani su i biofilmovi koji su pretežno bili suvi, praškasti i/ili u veoma tankom sloju razvijeni na stenovitom supstratu (Grupa 2). Ovakvi biofilmovi najčešće su različitih nijansi zelene boje (od jako svetle do nešto tamnijih), plavi, pa čak žuti i narandžasti.

U velikom broju ovih biofilmova, dominantna je bila zelena alga *Desmococcus olivaceus*: žuti tanki i praškasti biofilmovi na tačkama uzorkovanja BG3, BG4 (Slika 28) i R2 (Slika 21), zeleni biofilmovi na tačkama uzorkovanja R5 (Slika 21), HP4 (Slika 22), V4 (Slika 25) i S5 (Slika 34) i zeleni biofilmovi u Bogovinskoj pećini (Slika 28).

Tačke RC3 i RC4 (Slika 24) karakterisale su se pojavom velikog broja zelenih algi, pre svega alge *Klebsormidium flaccidum* koja je bila dominantna u ovim uzorcima biofilma. Treba napomenuti da biofilm na RC4 jeste bio tanak, ali je preko njega konstantno prelivala voda, što je omogućilo izrazit razvoj velikog broja predstavnika zelenih algi.

Trebouxia sp. je bila dominantna u svom praškastom biofilmu plave boje na tački V2 (Slika 25) i u svetlo zelenom biofilmu na tački PG3 (Slika 32). Za biofilm plave boje moglo bi se reći da je u pitanju lišaj. Vrste jednoćelijske zelene alge *Trebouxia* su najčešće simbiotske alge u lišajevima umerene i borealne zone (Sanders 2001). Neki autori tvrde da se rod samostalno sreće sporadično i da su te forme van talusa lišaja najverovatnije prelazni stadijumi koji potiču iz oštećenog lišaja (Ahmadjian 1988).

U zelenim biofilmovima u Lazarevoj pećini (Slika 27, L5 i L6), u unutrašnjosti nedaleko od veštačkog osvetljenja, dominirala je *Chlorella* sp.

Biofilm narandžaste boje, samo suv i praškast, zapažen je i u Božaninoj pećini (Slika 20, B4), gde je dominantna bila *Trentepohlia aurea*, zelena alga koja se veoma često sreće u aerofitskim staništima i koju karakteriše akumulacija karotenoida u filamentima koji joj daju narandžastu obojenost (Kharkongor i Ramanujam 2017).

Na par mesta uzorkovali smo biofilmove sa horizontalne površine (R6 i RC2, Slike 21 i 24). Izgled ovih biofilmova bio je nešto drugačiji u odnosu na druge uzorke, pre svega što su se razvijali na zemlji, odnosno na nakupljenom mulju.

Zapažanja koja su data, a na osnovu kojih se vidi da zelene alge dominiraju u tankim, suvim i praškastim biofilmovima, a cijanobakterije uglavnom u dobro razvijenim i želatinoznim, ilustrovana su i pomoću PCA analize na Slici 45.

5.4.2. Biofilm – skening elektron mikroskopija

Kompleksnost biofilma zahteva obično kombinaciju više različnih tehnika kako bi se identifikovale sve komponente biofilma i odnosi među njima. Pored vizuelne procene boje, teksture i strukture biofilma, od značaja je uzorke biofilma detaljnije analizirati skening elektronskim mikroskopom. U ovoj studiji, cilj snimanja skening elektronskim mikroskopom je bio da se uoče razlike između nekoliko različitih tipova biofilma (Slike 36 i 37): dobro razvijenog želatinoznog biofilma u kome dominira EPS (G1, S2), biofilmova u kojima dominiraju cijanobakterije (B7, B8 – kokoidne forme, B1- homocitne forme), suvog biofilma (BG4), biofilma preko koga preliva voda (RC4) u kome dominiraju zelene alge i biofilma u kome dominiraju vrste koje na svoje omotače talože kalcijum karbonat. Cijanobakterije i alge su veoma podložne dehidrataciji i isušivanju, zato priprema uzorka za skening elektronsku mikroskopiju može negativno uticati na mikroorganizme. Kod mnogih biofilmova snimljen je veoma dobro razvijeni EPS koji potiče od cijanobakterija. On formira dobro razvijeni matriks koji u debelom sloju štiti sve one mikroorganizme koji se u biofilmu nalaze. Hernández-Mariné i saradnici (2004) su takođe SEM analizom biofilma i supstrata pokazali da je mikrobijalna zajednica uronjena u EPS, a da EPS verovatno ima ulogu u stvaranju jakih veza između biofilma i supstrata. U nekim uzorcima EPS je bio razvijen u tolikoj meri

da se cijanobakterije i alge u biofilmu nisu uočavale, a u drugim su se nazirale kokoidne ili filamentozne forme. Priprema uzorka nije uticala na mikroorganizme ukoliko je EPS bio prisutan, što samo doprinosi činjenici da je jedna od njegovih osnovnih funkcija zaštita od isušivanja. Međutim, uzorak suvog biofilma (BG4) u kome isključivo dominira *Desmococcus olivaceus* (Slika 36f) bio je veoma dehidriran. Roldán i Hernández-Mariné (2009) su objavili SEM mikrografiju na kojoj se vidi zelena alga *Muriella* sp. koja, kao i *Desmococcus olivaceus*, formira kontinuirani sloj na površini stene, a kod koje su ćelije u potpunosti dehidrirane kao posledica pripreme uzorka. Jedan od razloga zašto postoji ovakva razlika biofilma u kome dominiraju cijanobakterije i biofilma gde su dominantne zelene alge je što cijanobakterije produkcijom EPS-a stvaraju idealnu sredinu kako za svoje razviće, tako i za razvoj drugih mikroorganizama, štiteći ih, i doprinoseći stabilizaciji, izdržljivosti i debljini biofilma (Cennamo i sar. 2012; De los Rios i sar. 2004).

Na tačkama L1 i PE3, zabeleženi su predstavnici cijanobakterija koji imaju sposobnost da na omotače talože kalcijum karbonat (Slika 37a, b, c, d). Skening elektronском mikroskopijom kristali su bili jasno vidljivi, sa tom razlikom što su na omotačima taksona na tački L1 bili krupniji, dok su kod *Geitleria calcarea* zabeleženoj u Petničkoj pećini bilii sitniji. Ova pojava je veoma česta u hipogejskim staništima (Albertano 2012). Jedna od najviše proučavanih cijanobakterija koja mobiliše jone kalcijuma i ugrađuje ih u omotače je *Scytonema julianum* (Ariño i sar. 1997). Pored ova dva taksona, kalcijum na omotače između ostalog talože i još neki taksoni, kao što su *Herpyzonema pulverulentum* (Hernández-Mariné i Canals 1994) i *Loriellopsis cavernicola* (Lamprinou i sar. 2011).

Zanimljiv je i uzorak stene u kojoj se razvija endolitski predstavnik cijanobakterija. Naime, iako se golinom okom videlo da se na steni razvija endolitska zajednica, skening elektronском mikroskopijom je potvrđeno da je u pitanju trihalna cijanobakterija koja najverovatnije aktivno razara stenoviti supstrat, što je i očekivano s obzirom da cijanobakterije koje aktivno razaraju ovaj tip podloge obično kolonizuju krečnjak. Karbonatni supstrat je u poređenju sa drugim stenama mekan i može pružiti zaštitu nekim mikroorganizmima koji imaju sposobnost da ga nasele. pruža zaštitu nekolicini mikroorganizama koji imaju sposobnost da a naseljavaju. Prepostavlja se da postoji više mehanizama pomoću kojih ovi mikroorganizmi razaraju karbonatne

stene. Sa jedne strane, smatra se da ovi mikroorganizmi sekretuju jedinjenja niske pH vrednosti. Međutim, s obzirom da su cijanobakterije autotrofi, u procesu fotosinteze koriste CO₂, što povećava pH okruženja. Zato postoji mišljenje da, ako je ovaj mehanizam u pitanju, fototrofi supstrat razaraju samo tokom noći, a postoje i pretpostavke prema kojima ćelije vrše fotosintezu samo kada su van karbonatnog matriksa. Svakako, ovaj mehanizam bi bio veoma metabolički zahtevan za ćeliju. Drugi mehanizam se zasniva na uklanjanju jona kalcijuma transportnim enzimima. Mikroorganizmi mogu usvajati kalcijum iz intersticijalnih prostora (između ćelija i u mineralima), što vodi do smanjenja količine kalcijuma u supstratu i slabljenja supstrata. Kalcijum koji je usvojen na jednoj strani ćelije kreće se kroz ćeliju i izlučuje na suprotnom kraju. Upravo taj transport kalcijuma omogućava ćelijama mikroorganizama da aktivno razaraju supstrat (Ramírez-Reinat 2010).

5.4.3. Biofilmovi i diverzitet fototrofnih mikroorganizama

Dobro razvijeni i voluminozni biofilmovi mogu da se formiraju u pećinskim staništima bez obzira na to što su stope rasta cijanobakterija i algi veoma niske (Grobbelaar 2000). Diverzitet fototrofnih mikroorganizama na samom ulazu može biti veoma visok, što je posledica rasta ovih mikroorganizama u različitim svetlosnim uslovima i specifičnih adaptacija cijanobakterija i algi. I u drugim studijama je zabeleženo da na ulazima pećina gde je veći intenzitet svetlosti dominiraju dobro razvijeni želatinozni biofilmovi (Lamprinou i sar. 2012a; Mulec i Kosi 2008; Piano i sar. 2015; Roldán i Hernández-Mariné 2009), a kako se ide ka unutrašnjosti pećine, biofilmovi postaju manje želatinozni, ali i tanji (Lamprinou i sar. 2012a). Ovo je donekle potvrđeno i u našoj studiji, gde se na osnovu Slike 47 primećuje da je promenljiva D (dobro razvijeni biofilmovi) pozitivno korelisana sa intenzitetom svetlosti, za razliku od promenljive koja predstavlja tanke biofilmove. Diverzitet fototrofnih mikroorganizama se obično takođe smanjuje kako se udaljava od ulaza pećine (Roldán i Hernández-Mariné 2009). Neretko se u ovim tanjim biofilmovima malo dalje od samog ulaza, ali pri prirodnom osvetljenju, mogu naći taksoni cijanobakterija koji imaju sposobnost da talože kalcijum karbonat na omotače (Hernández-Mariné i sar. 2001; Lamprinou i sar. 2012a; Roldán i sar. 2004) pri čemu je jedan od najčešće zabeleženih taksona *Scytonema julianum* (Lamprinou i sar. 2012a).

Jedan takav biofilm u ovoj studiji uzorkovan je sa tačke PE3 (Slika 33) koju karakteriše nizak intenzitet svetlosti od samo 11 Lux-a (Tabela 2). Ovaj biofilm je skoro isključivo činila cijanobakterija *Geitleria calcarea* na čijem je omotaču zapaženo izuzetno taloženje kalcijum karbonata. I u Božaninoj pećini, a takođe i Cerjanskoj, pri nižim intenzitetima svetlosti zabeleženo je prisustvo taksona koji “grade” kućice od kalcijum karbonata. U Božaninoj pećini, na tačkama B6 i B7, dokumentovana je *Scytonema drilosiphon*, dok je na tački C5 zabeležena trihalna cijanobakterija sa omotačima tamno plave boje koju smo identifikovali kao *Leptolyngbya* sp 1 (Tabela 3). Međutim, u Lazarevoj pećini, kako je zabeleženo na SEM mikrografijama (Slika 37), trihalna cijanobakterija koja taloži kalcijum karbonat zabeležena je pri nešto višem intenzitetu svetlosti, na tački L1.

Sa tri tačke uzorkovan je biofilm sa mesta koja se nalaze nedaleko od veštačkog osvetljenja u Lazarevoj pećini. Na ovim mestima biofilm je bio razvijen u tankom sloju na površini stenovitog supstrata, a kvalitativna analiza (Tabela 3) je pokazala da je diverzitet cijanobakterija i algi veoma mali i da su u biofilmu skoro isključivo prisutne zelene alge. Uopšteno, važi mišljenje da je u turističkim pećinama gde je instalirano veštačko osvetljenje u zajednici lampenflore diverzitet mnogo manji nego u uzorcima biofilma sa pećinskih ulaza, a zelene alge su često prvi kolonizatori (Mulec i sar. 2008). Prema Roldán i Hernández-Mariné (2009), ukoliko u uzorcima lampenflore dominiraju zelene alge, to znači da je takav biofilm u početnom stadijumu razvića. Iako se smatra da su cijanobakterije najbolje adaptirani fototrofni mikroorganizmi na ekstremne uslove, u staništima gde postoji manje sredinskih stresnih faktora (područja oko veštačkog osvetljenja) i gde su ekološki parametri stabilniji, često dominiraju zelene alge (Mulec 2005). Moglo bi se reći da *Chlorella* sp. koja je nađena u Lazarevoj pećini spada u grupu brzorastućih zelenih algi. U eksperimentu koji je trajao 25 dana, a koji je izведен u uslovima koji su identični onima koji vladaju u pećini, *Chlorella* je imala deset puta veći broj ćelija u poređenju sa cijanobakterijom *Chroococcus minutus* (Mulec i Kosi 2009). Ovaj način pojave brzo-rastućih zelenih algi kao što je *Chlorella* sp. može predstavljati jako veliki problem u turističkim pećinama, jer ima negativan uticaj na stenoviti supstrat i pećinski nakit na kome se razvija. Jedna od dodatnih zabrinjavajućih činjenica je da *Chlorella* sp. u Lazarevoj pećini ne formira klasični epilitski biofilm, nego je zajednica lampenflore delimično razvijena i u stenovitom supstratu.

Prepostavlja se da osvetljenje, odnosno intenzitet svetlosti, može uticati na to da neke epilitske alge jednostavno postanu endolitske (Asencio i Aboal 2001). Prema istraživanjima Urzì i saradnika (2010) biofilmovi blizu veštačkog osvetljenja su takođe bili formirani skoro isključivo od zelenih algi, a u onima na ulazu dominirale su cijanobakterije. Nasuprot većini studija, Smith i Olson (2007) su zaključili da u uzorcima lampenflore dominiraju pripadnici Cyanobacteria. Istraživanja Mulec i saradnika (2008) pokazala su isto, ali se ističe da je to verovatno posledica činjenice da lampenflora nije tretirana od vremena kada je instalirano prvo osvetljenje. Zaključeno je da u zrelog stadijumu, biofilm počinje više da liči na onaj koji se nalazi blizu ulaza pećina u kome dominiraju cijanobakterije (Mulec i sar. 2008; Mulec 2012).

5.5. Taksonomski sastav cijanobakterija i algi

5.5.1. Pregled osnovnih grupa fototrofnih mikroorganizama

Na osnovu detaljne kvalitativne analize iz uzoraka biofilma sa svih posećenih lokaliteta u Srbiji, zabeleženo je prisustvo ukupno 290 taksona (Tabela 3) svrstanih u 4 razdela: Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta. Hoffmann (2002), Piano i sar. (2015), kao i Smith i Olson (2007) smatraju da su Cyanobacteria, Bacillariophyta i Chlorophyta dominantne grupe fototrofnih organizama u pećinskim staništima uopšteno. Prilikom analize literature koja obrađuje zajednice fototrofnih organizama koji se razvijaju u biofilmu na zidovima pećina, u najvećem broju studija beleži se prisustvo ili samo ove tri grupe, ili još neke grupe fototrofnih mikroorganizama uz ove tri. Takođe, treba napomenuti da su u nekim studijama rađene samo cijanobakterije (Martinez i Asencio 2010; Pantazidou i Roussomoustakaki 2005; Vinogradova i sar. 1998), a u nekim samo predstavnici cijanobakterija i zelenih algi, jer silikatne alge ili nisu obrađivane, ili nisu detaljno analizirane (Pentecost i Zhao 2001; Popović i sar. 2015a; Urzì i sar. 2010). Neke studije se radi detaljnije analize silikatnih algi fokusiraju samo na ovu grupu fototrofnih mikroorganizama, na primer Falasco i saradnici (2014) napisali su revijalni rad posvećen samo silikatnim algama u hipogejskim ekosistemima. Czerwak-Marcinkowska i Mrozińska (2009) nisu obrađivali cijanobakterije, već su se fokusirali samo na alge. Samo tri pomenute dominantne grupe

fototrofnih mikroorganizama su zabeležene u biofilmu sa zidova pećina od strane sledećih autora: Klemenčič i Vrhovšek (2005), Lamprinou i saradnici (2012a), Mulec i sar. (2008) (ovde su predstavnici razdela Bacillariophyta zabeleženi u okviru razdela Chrysophyta), Roldán i sar. (2004), Selvi i Altuner (2007). Međutim, mnogi autori uz ove tri dominantne grupe beleže i prisustvo predstavnika razdela Xanthophyta: Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska (2009, 2011), Czerwik-Marcinkowska i sar. (2015), Rajczy i sar. (1986). Czerwik-Marcinkowsk i Mrozinska (2011) pored svih navedenih grupa, beleže i prisustvo dinoflagelata, a Cennamo i sar. (2012) i prisustvo Rhodophyta. Azúa-Bustos i sar. (2009) su na primer analizirali samo predstavnike razdela Rhodophyta.

U ovoj studiji, po broju taksona izdvaja se razdeo Cyanobacteria, koga prati razdeo Bacillariophyta (Tabela 2, Grafik 9). Chlorophyta su predstavljene znatno manjim brojem taksona, dok razdeo Xanthophyta broji samo jednog neidentifikovanog predstavnika. Isti trend prati i broj rodova (Grafik 10). Prema Albertano (1993), dominantna grupa fototrofnih mikroorganizama koja kolonizuje hipogejska staništa su epilitske cijanobakterije, a prate ih zelene i silikatne alge. Prilikom analize uzoraka iz pećina, mnogi autori su dokumentovali dominaciju Cyanobacteria: Cennamo i sar. (2012), Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska (2011), Czerwik-Marcinkowska i sar. (2015), Lamprinou i sar. (2009, 2012a), Mulec i Kosi (2008), Mulec i sar. (2008), Pentecost i Zhaohui (2001), Roldán i sar. (2004), Selvi i Altuner (2007), Urzì i sar. (2010). U većini studija takođe, na drugom mestu po brojnosti su zelene alge, dok su silikatne alge na trećem mestu, na primer kod Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska (2011, 2015), Lamprinou i sar. (2009), Mulec i Kosi (2008), Mulec i sar. (2008), Selvi i Altuner (2007). Prema Roldán i sar. (2004) na drugom mestu po brojnosti su silikatne alge, dok Klemenčič i Vrhovšek (2005) na prvom mestu po brojnosti beleže silikatne alge (u pitanju je turistička pećina gde su uzorci uglavnom uzeti na mestima nedaleko od reflektora). Mulec i Kosi (2008) navode da prema Krivograd-Klemenčič (2007) na ulazu pećina dominiraju silikatne alge. Pouličková i Hašler (2007) su na dobro osvetljenim mestima na ulazima pećina i ispred ulaza zabeležili dominaciju zelenih algi, a u dubljim delovima pećine dominaciju cijanobakterija.

5.5.2. Cyanobacteria

Razdeo Cyanobacteria svakako predstavlja dominantan razdeo kada se uzme u obzir broj taksona, ali i njihova zastupljenost u ovoj studiji (Tabela 3, Grafik 9). Često je odnos grupe cijanobakterija takav da dominiraju kokoidne, a prate ih homocitne, a zatim heterocitne forme, kao što je zabeleženo i kod Martinez i Asencio (2010), Mulec i sar. (2008), Pantazidou i Roussomoustakaki (2005), a kod nekih su zabeleženi i predstavnici cijanobakterija koje karakteriše grananje (Martinez i Asencio 2010 i Lamprinou i sar. 2012a). Surovi uslovi kojima su aerofitske cijanobakterije izložene utču na to da u aerofitskoj sredini dominiraju taksoni sa jednostavnom morfološkom organizacijom i građom talusa, kao što su kokoidne forme (Cvijan i Fužinato 2011). Kokoidne forme imaju uglavnom dobro razvijene mukozne omotače koji im omogućavaju da ostanu metabolički aktivne duže vreme, što im daje prednost u uslovima niskog intenziteta svetlosti (Pentecost i Whitton 2012). Kokoidne cijanobakterije zabeležene su na svim lokalitetima, pri čemu je njihov diverzitet veliki, a najveći u okviru rodova *Gloeocapsa*, *Chroococcus* i *Gloeothece*.

U rodu *Gloeocapsa* zabeleženo je najviše taksona (Tabela 3), pri čemu su svi aerofitski, a prilagođenost ovom načinu života takođe se vidi i na osnovu podataka koji prikazuju na koliko lokaliteta su pojedini taksoni nađeni: *G. atrata* (7), *G. biformis* (10), *G. kuetzingiana* (7), *G. nigrescens* (8), *G. punctata* (8), *G. reicheltii* (6) i *G. violascea* (7). Često i autori drugih studija (na primer Czerwik-Marcinkowska 2015; Martinez i Asencio 2010) daju podatak da u uzorcima biofilma iz pećinskih staništa dominira rod *Gloeocapsa*. Prema Cennamo i saradnicima (2012), *Gloeocapsa* sp. bila je među dominantnim taksonima, a *G. kuetzingiana* dominira prema Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska (2011). Poznato je da se kokoidne cijanobakterije ovog roda često razvijaju na mestima gde je niži inenzitet svetlosti (Pentecost i Zhao 2001). Prema Martinez i Asencio (2010) dominacija taksona roda *Gloeocapsa* u biofilmu znači da je kolonizacija zidova pećine u srednjoj fazi.

Rod *Chroococcus* je takođe vredan pažnje, pri čemu su sledeći predstavnici zabeleženi u velikom broju pećina: *C. ercegovicii* (7), *C. spelaeus* (8), *C. turgidus* (8). Od interesa je pomenuti *C. ercegovicii* (prvi put opisan kao *Chroococcus schizodermaticus* f. *pallidus*) i *C. spelaeus*, koji su prvi put opisani od strane Ercegovića

(1925) na teritoriji Hrvatske. *Chroococcus* je jedan od najčešće sretanih rodova i kod Martinez i Asencio (2010). Kao dominantne taksonne ovog roda, Cennamo i saradnici (2012) izdvajaju *C. lithophilus* i *C. varius*, a Czerwak-Marcinkowska i Mrozinska (2011) naglašavaju *C. minor*.

Rod *Gloeothece* se u različitim studijama retko pominje u kontekstu dominantnog roda, ali analiza velikog broja različitih biofilmova po strukturi, mestu na kome se nalaze, po sadržaju vlage i po razvijenosti pokazala je prisustvo kako aerofitskih tako i slatkovodnih taksona pri čemu su se izdvojili *G. fusco-lutea* i *G. rupestris*, koji su zabeleženi na 6, odnosno 9 lokaliteta.

Rod *Chroococcidiopsis* zabeležen je na 8 lokaliteta. Za ovaj rod karakteristično je da njegovi predstavnici generalno preferiraju niže intenzitete svetlosti, pa iz tog razloga najčešće kolonizuju zemljište, stene, pećine (Donner 2013).

Leptolyngbya je najraznovrsniji rod trihalnih Cyanobacteria u ovom istraživanju, mada se po broju taksona izdvajaju i *Oscillatoria* i *Phormidium*. Predstavnici roda *Leptolyngbya* često se mogu naći u biofilmu u pećinskim staništima, posebno na vlažnim mestima, odnosno u veoma vlažnom biofilmu. U uzorcima biofilma naročito je bila zastupljena *L. foveolarum* (dokumentovana u 12 pećina) koja je rasprostranjena širom sveta i koju karakterišu najraznovrsnija staništa (Komárek i Anagnostidis 2005). *L. foveolarum* je zabeležena kao najčešće sretani takson i od strane Pantazidou i Roussomoustakaki (2005), a uopšteno rod *Leptolyngbya* u radu Martinez i Asencio (2010).

Interesantno je pomenuti i takson *Wolskyella cf. floridana* koji je zabeležen na 6 lokaliteta.

Od značaja je pomenuti i endolitskog predstavnika trihalnih cijanobakterija koji je bio prisutan u uzorku stenovitog supstrata iz Petničke pećine. Karakteristika ovog taksona, koji podseća na rod *Leptolyngbya*, su maslinasto zeleni trihomi sa suženjima između ćelija, ćelije koje su malo duže nego šire ($1,71\text{--}2,86 \times 1,55\text{--}1,79 \mu\text{m}$) i dobro razvijeni bezbojni do svetlo braon omotači. Diverzitet endolitskih cijanobakterija je zadržao visok: predstavnici rodova *Cyanosaccus*, *Hormathonema*, *Hyella*, *Solentia*, *Plectonema*, *Kyrthutrix*, *Schizotrix*, *Iyengariella* i *Mastigocoleus* smatraju se pravim euendolitima (Ramírez-Reinat 2010).

Najmanji broj taksona zabeležen je u heterocitnoj grupi cijanobakterija, a po broju taksona se izdvajaju *Scytonema* i *Nostoc*. Generalno se u pećinama predstavnici heterocitnih cijanobakterija retko sreću, a kako navode Pentecost i Whitton (2012), razlog za to mogu biti visoke energetske potrebe za fiksaciju atmosferskog azota. Izuzetak može biti rod *Nostoc*, što se zapaža i iz ove studije, gde su predstavnici ovog roda nađeni na većem broju lokaliteta. Czerwak-Marcinkowska i Mrozinska (2011) su kao najčešće predstavnike heterocitne grupe cijanobakterija zabeležili *N. commune*, ali i *Calothrix fusca*. Takson *Geitleria calcarea* kao jedini predstavnik cijanobakterija sa pravim grananjem zabeležena je samo u Petničkoj pećini (PE3). Ovaj takson opisan je iz krečnjačke pećine u Izraelu (Friedmann 1955), a zatim je nalažen i na mnogim drugim lokalitetima širom sveta (Friedmann 1978).

5.5.2.1. Ekologija cijanobakterija

U hipogejskim staništima među kojima su pećine veoma često, pored aerofitskih taksona, budu prisutni i taksoni kojima primarno stanište nije stenoviti supstrat (Asencio i Aboal 2000a, b; Hoffmann 2002; Mulec i sar. 2008). Takvi taksoni se obično razvijaju na veoma vlažnim mestima i mestima koja stalno kvasi voda. Na ovakvim mestima, ti taksoni se mogu zadržati privremeno, ili mogu biti prisutni duže vreme ukoliko su uslovi povoljni. Tipični aerofitski taksoni, ali i oni koji su pretežno akvatični, zapaženi su i u ovoj studiji.

Na osnovu ekologije taksona koja se nalazi u literaturi za identifikaciju (Komárek i Anagnostidis 1998, 2005; Komárek 2013), za većinu taksona cijanobakterija navedeno je više tipova staništa. Kada se uzmu u obzir staništa izložena vazduhu, u literaturi su navedene četiri kategorije – subaerofitske (nastanjuju aerofitska staništa koja kvasi voda), aerofitske (nastanjuju aerofitska staništa i mogu usvajati vlagu iz vazduha), atmofitske (aerofitska staništa obično blizu vodopada ili termalnih izvora) i terestrične alge (nastanjuju zemljište, ili žive u zemljištu). Kako bi pojednostavili i olakšali analizu zabeleženih taksona, ove četiri grupe su svedene pod jednu – aerofitske cijanobakterije. U ovu grupu uračunate su one koji se primarno smatraju aerofitskim, ali i one za koje je navedeno da pored nekog drugog staništa mogu naseljavati i aerofitska staništa. Veliki broj identifikovanih taksona cijanobakterija u ovoj studiji

pripada ovoj grupu, pri čemu pre svega naseljavaju vlažne stenovite površine, sa izuzetkom od nekoliko taksona koji se nalaze na suvljim stenama ili nekom drugom supstratu koji je izložen vazduhu (zemlja, drvo, mahovine).

Što se kokalnih cijanobakterija tiče, u sledećim rodovima zastupljeni su samo aerofitski taksoni (na osnovu prethodne podele): *Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Chlorogloea*, *Chroococcidiopsis*, *Chroococcus* (sa izuzetkom *C. turgidus* koji ima veoma varijabilno stanište), *Cyanothece*, *Enthophysalis*, *Gloeobacter*, *Gloeocapsa*, *Gloeocapsopsis*, *Nephrococcus*, *Pseudocapsa*, *Synechococcus* i *Synechocystis*. Sa druge strane, predstavnici roda *Anathece* su isključivo slatkovodni taksoni, dok kod roda *Gloeothece* imamo zabeležene kako primarno aerofitske, tako i slatkovodne predstavike (*G. abiscoensis*, *G. incerta* i *G. subtilis*), pri čemu se *G. abiscoensis* razvija u vodnim telima obično na karbonatnom supstratu, a *G. subtilis* na alkalnom sedimentu. Većina pripadnika navedenih rodova u kojima su svi predstavnici aerofitski razvija se na vlažnim stenovitim supstratima. Međutim, za nekoliko taksona napomenuto je da se nalaze na stenovitim supstratima koji povremeno isušuju (*Enthophysalis atroviolacea* i *Gloeocapsa rupicola*) ili koji su pretežno suvi (*Gloeocapsopsis dvorakii* i *Gloeocapsopsis pleusocapsoides*). Sa druge strane, za neke predstavnike naglašeno je da su dokumentovani u pećinama ili na zasenčenim mestima pri nižim intenzitetima svetlosti (*Chlorogloea novacekii*, *Chroococcidiopsis kashayi*, *Gloeocapsa alpina*, *Gloeocapsa nigrescens*, *Gloeocapsa violacea*, *Gloeothece violacea* i *Pseudocapsa dubia*). Za rod *Asterocapsa* ne može se tvrditi da li su svi zabeleženi predstavnici pretežno stanovnici stenovitih površina. Od značaja je još pomenuti i predstavnike roda *Eucapsis* čija identifikacija do nivoa vrste nije bila moguća, ali se prepostavlja da većina zabeleženih predstavnika pripada onim taksonima koji pretežno naseljavaju vodene ekosisteme.

Homocitne cijanobakterije, za razliku od kokoidnih, imaju malo drugačiji trend. Primećuje se da većina predstavnika, osim robova *Microcoleus*, *Porphyrosiphon*, *Symploca* i *Tapinothrix* čiji se taksoni smatraju isključivo aerofitskim, preferira vodu ili veće količine vode, odnosno više vlage na staništu. Što se tiče robova *Kamptonema* i *Leptolyngbya*, za sve taksone navedeno je da se mogu javljati na vlažnim stenama (ili zidovima) iako njihovo primarno stanište možda može biti drugačije. To takođe važi i za predstavnike roda *Oscillatoria*, osim za takson *O. cf. ornata* koja je slatkovodna

vrsta, ali se razvija u bentosu litorala jezera. Predstavnik roda *Wolskyella* je prvenstveno slatkovodni, kao i svi predstavnici roda *Phormidium* koji uglavnom naseljavaju bentos, pri čemu *Ph. ambiguum* i *Ph. articulatum* mogu živeti i na vlažnim stenama.

Svi predstavnici heterocitnih cijanobakterija mogu se smatrati aerofitskim taksonima, osim taksona *Tolypothrix cf. tenuis*. Na nešto zasenčenijim mestima obično se nalazi *Scytomena varium*, a tipični stanovnici pećina su *Toxopsis calypsus* i *Geitleria calcarea*.

5.5.3. Bacillariophyta

Zajednice aerofitskih silikatnih algi uglavnom čine taksoni čije su ćelije malih dimenzija, a koji veoma dobro tolerišu ekstremne uslove života u aerofitskoj sredini (Falasco i sar. 2014). Najveći broj taksona kod razdela Bacillariophyta zabeležen je u rodovima *Luticola*, *Humidophila*, *Nitzschia* i *Gomphonema* (Tabela 3).

Rod *Luticola* predstavljen je sa 17 zabeleženih taksona. Veliki diverzitet ovog roda u pećinskim staništima beleži i Tofilovska (2014), gde je dokumentovano 8 taksona. Prema Levkov i saradnicima (2013), mnogi predstavnici ovog roda predstavljaju taksone koji su adaptirani na život u aerofitskoj sredini, pri čemu se u poslednje vreme, sve više novih taksona opisuje sa različitih aerofitskih staništa (npr. Van de Vijver i Mataloni 2008). U ovoj studiji na najviše mesta uzorkovanja zabeleženi su taksoni *Luticola nivalis* (5) i *L. quinquenodis* (7). *L. nivalis* je aerofitska, troglofilna vrsta dobro adaptirana na nizak intenzitet svetlosti (Falasco i sar. 2014). Takođe, isti autori zaključuju na osnovu brojnih studija da *L. nivalis*, kao i *L. mutica*, dobro podnose nizak sadržaj nutrijenata, što je čest uslov koji vlada u pećinskim ekosistemima, a ubrajaju se i u najčešće nalažene taksone u hipogejskim ekosistemima. *L. mutica* se često može razvijati i kao epifita na mahovinama (Poulíčková i Hašler 2007).

Humidophila je takođe jedan od rodova sa velikim brojem predstavnika u aerofitskoj sredini, a u ovoj studiji zabeleženo je 9 taksona. Predstavnici ovog roda bili su prisutni u velikom broju pećina, pri čemu se izdvajaju *H. aerophila* (9), *H. biceps* (7), *H. brekkaensoides* (5), *H. contemnata* (5), *H. contenta* (11) i *Humidophila paracontenta* (8). Kao što se primećuje, posebno se izdvaja *H. contenta*. Prema Falasco i saradnicima (2014) *H. contenta*, a pored nje i *H. biceps* (navedene kao *Diadesmis*

contenta i *Diadesmis biceps*), su među najčešće zabeleženim taksonima u hipogejskim staništima. *H. contenta* je takson koji ima sposobnost da živi i razmnožava se pri najrazličitijim ekološkim uslovima: U pećinama se nalazi na jako ili slabo osvetljenim mestima, na suvom ili vlažnom supstratu (Falasco i sar. 2014). Za ovaj rod se smatra da je izuzetno polimorfan (Pouličková i Hašler 2007), a kao i *Luticola*, takođe se može razvijati kao epifita na mahovinama (Roldán i Hernández-Mariné 2009).

Rod *Nitzschia* predstavljen je sa 15 taksona od kojih je 11 nađeno samo u Rćanskoj pećini (Tabela 3, Slika 24), uglavnom na stenovitom supstratu koji kiasi voda. Takođe, isto je zaključeno za predstavnike roda *Navicula*. Prema Czerwik-Marcinkowska i Mrozińska (2009) vlažna mesta mogu veoma lako biti kolonizovana predstavnicima roda *Nitzschia*, a prema Falasco i saradnicima (2014) u hipogejskim staništima zabeležen je generalno veliki broj taksona ovoga roda, čak 26.

U okviru roda *Gomphonema* ističe se *G. micropus* koja je zabeležena na pet lokaliteta. Međutim ovaj rod se retko pominje u kontekstu pećinskih staništa (Falasco i sar. 2014).

Rodove koje takođe treba istaći su *Hantzschia*, *Orthoseira* i *Pinnularia*. U ovoj studiji najzastupljenija je bila *H. abundans*, identifikovana na 7 lokaliteta. U literaturi, kada se govori o pećinskim staništima, često se pominje *H. amphioxys* koja spada u troglofilne vrste koje se često nalaze pri nižim intenzitetima svetlosti. Što se tiče predstavnika ostala dva roda, *Orthoseira roseana* je nađena na 11, a *Pinnularia borealis* na 8 lokaliteta. Sva tri taksona spadaju u grupu najčešće sretanih taksona u hipogejskim staništima, koji se osim u biofilmu na stenovitom supstratu razvijaju i kao epifite na mahovinama (Falasco i sar. 2014; Pouličková i Hašler 2007). Prema Czerwik-Marcinkowska i Mrozinška (2011), ova tri taksona su bila veoma zastupljena u ispitivanim pećinama. Interesantna pojava kod *O. roseana* i *P. borealis* je da su dimenzije njihovih ćelija nešto veće kod aerofitskih predstavnika nego kod tipičnih akvatičnih jedinki, što odstupa od pravila po kome su aerofitski taksoni manjih dimenzija (Falasco i sar. 2014). Za većinu robova silikatnih algi istaknuto je da se razvijaju i kao epifite na mahovinama. Upravo na tačkama RC5 i S3 na kojima je dokumentovano najviše taksona silikatnih algi, bile su prisutne i mahovine. Takođe, diverzitetu silikatnih algi na ovim lokalitetima doprinelo je prisustvo vode na nekim

mestima uzorkovanja u Rćanskoj pećini i sezonsko uzorkovanje biofilma u pećini Samar.

U uzorcima biofilma pretežno dominiraju cijanobakterije i zelene alge, dok su silikatne alge obično teško uočljive. Jedini uzorak biofilma u ovoj studiji u kome se i bez prethodnog laboratorijskog tretmana uzorka videla izrazita dominacija silikatnih algi *Orthoseira dendroteres* i *Orthoseira roseana* je biofilm sa tačke S7 (Slika 34). Prilikom tretmana uzorka, eliminiše se sva organska materija i ostaju samo silifikovani ćelijski zidovi algi, na osnovu kojih je moguće veoma precizno identifikovati taksoni koji se u uzorku nalaze. Biofilm ima tu osobinu da, zbog lepljivih svojstava EPS-a, lepi različite čestice kao i ćelije mikroorganizama, ali i silifikovane ćelijske zidove silikatnih algi koje na biofilm dospevaju prilikom slivanja vode, kapanja prokapnih voda, ili prolaska privremenih voda. Veliki broj taksona silikatnih algi može poticati iz ovih voda, a neki se mogu privremeno zadržati i razvijati u biofilmu, što znači da nisu svi taksoni tipični stanovnici stenovitih površina. Bitna činjenica je i to da se u biofilmu nalazi veliki broj ljušturica neživih predstavnika, pa bi recimo kvantifikacija živih predstavnika bila otežavajuća okolnost. Jedan od načina na koji bi se mogla utvrditi vijabilnost je konfokalna mikroskopija, jer živi predstavnici fluoresciraju, a neživi ne (Roldán i Hernández-Mariné 2009).

5.5.4. Chlorophyta

Predstavnici razdela Chlorophyta, pogotovo taksoni jednostavne morfologije, koji imaju loptaste ćelije često se sreću u aerofitskim staništima (Lewis 2007). Pored toga što imaju nizak nivo morfološke organizacije, ćelije su obično malih dimenzija, manjih nego kod predstavnika koji naseljavaju vodene ekosisteme. Upravo je veliki broj predstavnika kokalnih formi zabeležen u ovoj studiji (Tabela 3), među kojima se izdvajaju rodovi *Coccomyxa*, *Trebouxia*, *Stichococcus* i *Trochiscia* koji su zabeleženi na većem broju lokaliteta. Bitno je obratiti pažnju na rod *Chlorella* sp. koji je zabeležen u zajednici lampenflore Lazareve pećine, jer je prema Urzi i saradnicima (2010) ovaj takson dominantna zelena alga u uzorcima biofilma. Većina navedenih robova spada u kategoriju tipičnih aerofitskih algi. Za neke od njih se pretpostavlja da mogu koristiti i organski supstrat. Prema Roldán i Hernández-Mariné (2009), još je Chodat (1909) radio

na kulturama algi *Chlorella* i *Coccomyxa* i istraživao uslove pri kojima ove alge rastu na organskom supstratu. *C. vulgaris* i *Stichococcus bacillaris* se često nalaze i na mahovinama i jetrenjačama (Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska 2011).

Pored kokalnih formi, u aerofitskim staništima često se sreću taksoni čija je morfologija takva da im ćelije formiraju paketiće, što je na primer uobičajeno kod taksona *Apatococcus lobatus* i *Desmococcus olivaceus*. *D. olivaceus*, koji je zabeležen na najviše lokaliteta, je jedna od najzastupljenijih aerofitskih algi (Rindi 2007), odnosno kosmopolitska vrsta, koja se osim na stenovitim površinama razvija i na drvenim supstratima, često u vidu tanke, zelene, praškaste prevlake. U velikom broju uzoraka *D. olivaceus* je zabeležen kao prateći takson, ali na tački S5 (Slika 34) je bio dominantan, u vidu tanke zelene praškaste prevlake na steni. Interesantna je pojava taksona *Gloeocystis vesiculosa* koga karakteriše veoma dobro razvijen mukozan omotač.

Od trihalnih predstavnika zelenih algi, izdvajaju se *Trentepohlia aurea* i *Klebsormidium flaccidum* koji je dominirao u Rćanskoj pećini i koji je u uzorcima biofilma zabeležen i od strane Czerwik-Marcinkowska i Mrozinska (2011). *Klebsormidium* predstavlja rod zelenih algi koji se često sreće u aerofitskim staništima i često je prisutan u zajednici biofilma koja se razvija pri osnovi zidova različitih građevina. Za taksone roda *Klebsormidium* ističe se da su otporni i tolerantni na različite tipove stresnih uslova, među kojima je i dehidratacija (Rindi 2007). Zanimljiva je činjenica da je najveći diverzitet zabeležen u rodu *Cosmarium*, koji se uvek sporadično pojavljuje u biofilmu, tako da se za većinu predstavnika prepostavlja da su u biofilm dospeli slučajno. To se takođe prepostavlja i za *Pediastrum simplex* var. *echinulatum* koji je nađen na mestu koje konstantno vlaži voda koja se sliva niz pećinski zid, a samo mesto nalazi se odmah uz mali voden tok u tom delu pećine. Voda koja se sliva niz zidove može, na primer poticati iz staništa koja se nalaze iznad pećinskog karsta, tako da dok voda prolazi kroz pukotine stena, može nositi i ćelije mikroorganizama, koji su najčešće zemljjišni i slatkovodni predstavnici. Ovi organizmi obogaćuju zajednicu fototrofnih mikroorganizama i znatno doprinose lancu ishrane (Mulec i Kosi 2008).

5.5.5. Problem identifikacije aerofitskih cijanobakterija i algi

Identifikacija cijanobakterija, ali i zelenih algi predstavlja veliki izazov, pre svega što aerofitski predstavnici pretežno imaju jednostavnu morfologiju, jer su uglavnom zastupljene kokoidne forme malih dimenzija. Što se tiče silikatnih algi, situacija je nešto bolja, s obzirom da se predstavnici ovog razdela mogu identifikovati na osnovu morfologije i struktura silifikovanog čelijskog zida koje se uočavaju svetlosnim mikroskopom nakon laboratorijske obrade uzorka i pripreme trajnih preparata. Kod silikatnih algi zabeležen je veliki diverzitet, pri čemu je najveći broj predstavnika identifikovan do nivoa vrste. Nekoliko predstavnika nije bilo moguće identifikovati do nivoa vrste, pre svega zbog većeg oštećenja čelijskog zida, pa se dimenzije nisu mogle precizno ustanoviti. Kod zelenih algi identifikacija je bila problematična kod kokalnih predstavnika i kod njih uglavnom nije rađena do nivoa vrste.

Identifikacija cijanobakterija predstavlja poseban izazov. Treba napomenuti da su neki predstavnici cijanobakterija samo kategorisani kao kokoidne, homocitne i heterocitne forme, jer nije bilo moguće u potpunosti odrediti rod, s obzirom da su delili morfološke karakteristike najmanje dva roda. Kod najvećeg broja identifikovanih taksona, opisne karakteristike koje su navedene u literaturi za identifikaciju su se podudarale sa karakteristikama taksona. Međutim, kod određenog broja taksona, neki parametri (dužina i/ili širina čelija, debljina omotača, boja omotača i/ili čelija, stanište itd.) su minimalno odstupali od onih koji su literaturno dostupni, pa iz tog razloga ovi taksoni nose oznaku cf. U nekim rodovima taksoni su razdvojeni u različite grupe, ali nije bilo moguće povezati ih sa poznatim vrstama. Tako je, na primer rod *Asterocapsa* predstavljen sa šest različitih taksona, od kojih samo jedan liči na *A. purpurea*, dok su drugi po svim kriterijumima odstupali od već opisanih vrsta i stoga su im dodeljeni brojevi od 1 do 5. Još jedan veoma problematičan rod je i rod *Gloeocapsopsis* kod koga su svi identifikovani taksoni po većini kriterijuma odgovarali onima iz literature, ali su razlike za određene parametre ipak postojale, pa stoga nose oznaku cf. (na primer *Gloeocapsopsis* cf. *dvorakii* itd.). Ono što je zanimljivo, kod sledećih taksona zabeležena je varijabilnost (ali u granicama određenog taksona): *Aphanocapsa fusco-lutea*, *A. muscicola*, *Aphanothece saxicola*, *Chroococcus ercegovicii*, *C. spelaeus*, *C.*

turicensis, *Gloeocapsa atrata*, *G. punctata*, *G. alpina*, *G. violacea*, *Gloeothece fusco-lutea* i *Pseudocapsa dubia*. Recimo, dimenzije ćelija *C. ercegovicii* i *C. spelaeus*, *G. alpina* i *G. violacea* znatno variraju i kreću se u širem rasponu od onih koje su date u literaturi. Sa druge strane, kod *Pseudocapsa dubia* primećena je velika varijacija u obliku ćelija, veličini ćelija, ali i u boji omotača, i to uglavnom između uzoraka sa različitim lokaliteta. Mala odstupanja različitim morfološkim osobinama primećena su takođe kod različitih cijanobakterija u studiji Lamprinou i sar. (2009), a u pitanju su cijanobakterije *Phormidium cf. molle*, *Gloeocapsa biformis*, *Hassalia byssoidaea* i *Chroococcus tenax*. Kao i što su ovi autori zaključili *Asterocapsa*, *Chlorogloea* i *Chroococcus spelaeus* su vredni daljeg i detaljnijeg istraživanja, a iz ove studije bismo izveli zaključak da se to odnosi na većinu kokalnih predstavnika, a posebno na predstavnike rodova *Aphanocapsa*, *Asterocapsa* i *Gloeocapsopsis*. Treba još dodati da su mnogi taksoni u biofilmu (uglavnom oni dominantni) bili predstavljeni jedinkama u različitim fazama razvića (posebno kod roda *Gloeocapsa*). Kod trihalnih formi, identifikacija taksona bila je najteža kod roda *Leptolyngbya*, gde su se taksoni koje nismo mogli da identifikujemo karakterisali lila-tamno ljubičastom obojenosću omotača. Kod heterocitnih predstavnika, identifikacija je bila najkomplikovanija u rodu *Scytonema* i *Tolypothrix*, a najveća varijabilnost u izgledu kolonije i ćelija zabeležena je kod taksona *Nostoc commune*. Buduće studije bi trebalo da budu posvećene detaljnijoj analizi taksona aerofitskih cijanobakterija i algi i to kombinacijom morfoloških, ekoloških, ali i molekularnih analiza, odnosno koristeći polifazni pristup, kao što je predloženo u studiji Komárek i saradnika (2014).

Što se tiče identifikacije endolitskih predstavnika cijanobakterija i algi, dejstvo kiseline donekle je imalo uticaja na zelene alge, ali se morfologija ćelija i izgled cijanobakterija nisu menjali u značajnoj meri.

5.6. Sezonska analiza biofilma na primeru pećina Samar i Jezava

Rezultati sezonske dinamike ekoloških parametara, hlorofila *a* i parametara biofilma, objašnjeni su u prethodnim tačkama u ovom poglavlju (5.1.1., 5.2., 5.3.1.).

Kvalitativna analiza biofilma iz pećina Samar i Jezava četiri puta godišnje (Tabela 4) pokazala je prisustvo velikog broja taksona cijanobakterija i algi, u čemu se

vidi značaj sezonskog uzorkovanja biofilma. Naime, ukoliko uzmemo u obzir sve pećine, broj taksona je bio najveći upravo u pećini Samar (141 takson). Takođe, broj je bio relativno visok i u pećini Jezava, imajući u vidu da su u pećini Jezava uzorci sakupljeni samo sa tri tačke, nasuprot 7 mesta uzorkovanja koja su izabrana kao reprezentativna u pećini Samar. Skoro polovina od ukupnog broja identifikovanih taksona kako cijanobakterija, tako i silikatnih algi zabeležena je u pećini Samar. Odnos razdela i grupa cijanobakterija je isti kada posmatramo samo ove dve pećine, ili kada posmatramo svih petnaest pećina (najveći broj taksona zabeležen je u razdelu Cyanobacteria, zatim Bacillariophyta). Interesantno je da su u oba slučaja broj taksona cijanobakterija i broj taksona silikatnih algi skoro jednaki.

Broj taksona u pećini Samar bio je ujednačeniji na tačkama S1, S5 i S7, u poređenju sa ostalim mestima uzorkovanja (Grafik 25). Tačke S1 i S5 su mesta uzorkovanja gde je razvijen uglavnom suvlji biofilm, u kome nema puno taksona cijanobakterija. Sa druge strane, tačka S7 je bila najudaljenija od ulaza, i od svih tačaka imala je najujednačenije ekološke parametre, a u uzorku su u svakom pogledu dominirali predstavnici roda *Orthoseira*. Takođe, na ovim tačkama nisu zabeležene heterocitne forme cijanobakterija, za razliku od ostalih tačaka uzorkovanja. Na ostalim tačkama najveći diverzitet je zabeležen u decembru, a na tački S6 u martu.

Biofilm koji se razvija na ulazu pećina trpi niz promena – od stanja dobre hidratisanosti tokom hladnjih i kišnih meseci, do gotovo isušenog stanja tokom letnjih meseci. Ovo se može dovesti u vezu i sa hidrološkom aktivnošću pećine, koja je tokom kišnih perioda veća, upravo zbog veće količine prokapnih voda ili povremenih voda koje se slivaju niz zidove pećine. Privremene vode sa sobom mogu nositi razne čestice, između ostalog i ćelije različitih mikroorganizama koji vodom dospevaju u biofilm i iz drugih delova pećine, delova iznad pećine (zemljische i slatkvodne vrste). Tokom hladnjih i kišnih meseci (decembar i mart) primećeno je da su biofilmovi bili voluminozniji nego u avgustu, kada na nekim tačkama biofilma skoro da nije bilo (na primer J2 u avgustu). Sadržaj vode u biofim (Grafički 7 i 8) i relativna vlažnost vazduha (Tabela 2) su takođe bili viši u decembru i martu. Broj taksona u obe pećine bio je takođe najveći u martu i decembru, a najmanji u maju i avgustu (Grafik 25 i 26).

Kao što je navedeno u poglavljiju Rezulti (na osnovu Tabele 4), samo je mali broj taksona zabeležen u sve četiri sezone (24 taksona u pećini Samar i svega 3 taksona u

pećini Jezava). Neki od ovih taksona preferiraju pećine ili mesta sa nižim intenzitetom svetlosti (na primer *Chlorogloea* sp., *Chroococcidiopsis* sp.). Sa druge strane, neki predstavnici, pored toga što se mogu razvijati u aerofitskim, mogu se naći i u drugim tipovima staništa, što znači da su prilagođeni na širok spektar različitih uslova sredine (na primer *Aphanocapsa muscicola*, *Aphanothece pallida*). Veliki broj taksona bio je karakterističan samo za jednu sezonu. Za one taksone koji su se isključivo pojavili samo u određenoj sezoni, pretpostavlja se da je glavni uzrok njihovog odsustva u drugim periodima razlika u mikroklimatskim parametrima i posledica razlike u mikrostaništu.

5.7. Odnos supstrata i zajednice fototrofnih mikroorganizama

U sastav stena generalno ulazi veliki broj minerala. Minerali iz podloge postaju dostupni mikroorganizmima nakon rastvaranja u vodi (Pentecost i Whitton 2012), nakon čega mogu direktno biti apsorbovani od strane cijanobakterija i algi biohemijskim procesima (Albertano 2012; Scheerer et al. 2009).

Karbonatne stene se sastoje uglavnom od karbonatnih minerala, gde se karbonatni anjon (CO_3^{2-}) kombinuje sa katjonima kao što su Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} i Zn^{2+} (Boggs 2009). Mulec i saradnici (2008) prema Morse i MacKenzie (1990) ističu da u karbonatnim stenama u značajnim koncentracijama mogu biti nađeni Al, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Si, Sr, Ti, U i Zn. Što se tiče krečnjaka, oni sadrže jedan veći (Ca^{2+}) i jedan manji katjon (Mg^{2+}), ali i brojni drugi katjoni mogu biti prisutni u tragovima. Glavni anjon je CO_3^{2-} , ali i SO_4^{2-} , OH^- , F^- i Cl^- takođe mogu biti prisutni (Boggs 2009). Iz tog razloga, kao što je već razmatrano, krečnjak je glavni izvor kalcijuma i karbonatnih minerala, ali u manjoj meri natrijuma, kalijuma, kao i fosfora i azota. Koncentracije vanćelijskog kalcijuma ponekad mogu biti veoma visoke, što ima indirekstan uticaj na kolonizaciju supstrata. Dalje, stalno vlaženje i sušenje krečnjačkog supstrata može uticati na to da se na stenovitoj površini formiraju male depresije koje su ispunjene slanom vodom usled rastvaranja natrijuma i kalijuma, što na primer može biti stresno za većinu organizama (Pentecost i Whitton 2012). Usled kontakta krečnjaka i vode (slabih kiselina) otpušta se CO_2 čija se koncentracija u karboksizomima povećava, što vodi do efikasnije fotosinteze (Badger i sar. 2002). Zbog viših vrednosti pH,

krečnjak se ubraja u kategoriju alkalnih supstrata koji pogoduju razvoju pre svega cijanobakterija (Pantazidou i Roussomoustakaki 2005).

Veoma je diskutabilno u kojoj meri minerali iz podloge utiču na rast i razvoj mikroorganizama koji se na toj podlozi razvijaju. Prema Mulec i sar. (2008) aerofitske cijanobakterije i alge imaju specifičan odnos sa podlogom, pri čemu neki minerali u umerenim koncentracijama mogu imati pozitivan uticaj na rast fototrofa, ali na primer jako visoke količine mogu biti letalne. Pentecost i Zhaohui (2001) takođe smatraju da tip supstrata ima uticaja na oblikovanje strukture zajednica cijanobakterija i algi. Razmatrajući različite tipove podloga, Mazina i Maximov (2011), su zaključili da je taksonomski sastav u bliskoj vezi sa geološkim i mineraloškim svojstvima supstrata. U studiji autora Czerwic-Marcinkowska i Mrozinska (2011) napominje se da su neki taksoni kao na primer *Aphanocapsa parietina* (navедена kao *Mycrocystis parietina*), *Nostoc microscopicum*, *Humidophila contenta* (navедена kao *Diadesmis contenta*), *Hantzschia amphioxys*, *Luticola mutica*, *L. nivalis* i *Orthoseira roseana* veoma osetljivi na sastav i strukturu stenovitog supstrata.

U ovoj studiji zapaženo je da predstavnika Cyanobacteria ima više u pećinama čiji je stenoviti supstrat kategorisan kao rekristalisali i organogeni krečnjak, dok predstavnika Bacillariophyta ima više na klastičnom i mikritskom krečnjaku.

Raspored tipova krečnjaka duž prve PCA ose na Slici 44 se dovodi u vezu sa fizičkim karakteristikama ovih tipova supstrata, od kojih je značajno istaći poroznost. Kao što je napomenuto, kolonizacija i razvoj cijanobakterija i algi na nekom supstratu pre svega zavisi od njegovih fizičkih karakteristika, ekoloških faktora (pre svega dostupnosti vode), mikroklimatskih karakteristika, karakteristika lokaliteta, itd. (Guillitte 1995, Macedo i sar. 2009, Miller i sar 2006, Pinna i Salvadori 2008, Prieto i Silva 2005). Prema Gustavs (2010), ukoliko ima dovoljno vode i ukoliko su faktori povoljni, na supstratu će se formirati zajednica mikroorganizama, a sam tip supstrata igra manju ulogu u svemu tome. Takođe, prema Macedo i sar. (2009), veliki broj taksona na nekom supstratu, ne mora da znači da je taj supstrat bioreceptivan, već da su pre svega povoljni ostali faktori koji utiču na rast i razvoj mikroorganizama. Takođe, za neke široko rasprostranjene rodove cijanobakterija kao što su *Gloeocapsa*, *Chroococcus* i *Phormidium* nije moguće tvrditi da li preferiraju određen tip supstrata. Pošto još nije dokazana jasna veza između tipa supstrata i specifičnog organizma ili grupe organizama

koji taj supstrat naseljavaju (Macedo i sar. 2009; Tomaselli i sar. 2000), neophodna su dalja istraživanja.

4.8. *Nephrococcus sericus* S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, sp. nov.

Svi do sada opisani taksoni roda *Nephrococcus* dele neke zajedničke karakteristike kao što su izgled kolonije i oblik ćelija (Tabela 6). Opisan takson *N. sericus* (Popović i sar. 2016a) je morfološki veoma sličan taksonu *N. confertus* (Li 1984), ali se zapažaju razlike u pogledu veličine kolonije i njenog omotača, kao i u pogledu boje i veličine ćelija. Omotač kolonije *N. sericus* uvek je bezbojan, a i mnogo je tanji nego kod taksona *N. confertus*. Ćelije su manjih dimenzija, a ćelijski omotači vidljivi su jedino u mlađim kolonijama, dok u kasnijim stadijumima razvića nisu prisutni ili nisu vidljivi. U poređenju sa taksonom *N. shilinensis* (Tian i sar. 2001), *N. sericus* ima manje ćelije, ali šire omotače kolonija. Svakako, najveća razlika je u samom izgledu kolonije, jer se kolonija vrste *N. shilinensis* formira kombinovanjem manjih kolonija. Kod taksona *Nephrococcus* sp. (Watanabe i Komárek 1988) jedino je zabeležen dormantni stadijum, dok se kod taksona otkrivenog u Srbiji prepostavlja da su jednoćelijski stadijumi ustvari mirujuće ćelije, jer im je oblik i struktura drugačija od vegetativnih ćelija, koje se zapažaju u kolonijama.

Najčešća boja ćelija koja se sreće kod roda *Nephrococcus* je maslinastozelena, što je zabeleženo kod svih predstavnika, osim kod taksona *N. confertus*. Kod taksona opisanog u Srbiji, boja varira od zelenih do žućkastih nijansi. Varijacije u boji se možda mogu objasniti osobinama samih fikobiliproteina. Fikobiliproteini cijanobakterija su odgovorni za proces poznat kao komplementarna hromatska adaptacija, što je strategija koja im omogućava da pospeši prikupljanje svetlosti u okruženju gde je intenzitet svetlosti često podložan promenama (Stowe i sar. 2011). Kada kvalitet svetlosti varira, cijanobakterije prilagođavaju pigmente (mogu aktivno da menjaju odnos fikoeritrina i fikocijanina) tako da oni što optimalnije absorbuju svetlosnu energiju (Whitton 2012; Björn 2015). Biosinteza fikobiliproteina regulisana je kvalitetom svetla, a na nju utiču i količina nutrijenata i stadijum razvića, što rezultuje velikim promenama u pigmentaciji cijanobakterijskih ćelija (Arthur i Grossman 2003).

Tabela 6. Opis svih vrsta roda *Nephrococcus* (Popović i sar. 2016a).

	<i>Nephrococcus serbicus</i> S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek sp. nov.	<i>Nephrococcus confertus</i> Y.-Y. Li	<i>Nephrococcus shilinensis</i> Y.-P. Tian	<i>Nephrococcus</i> sp. Watanabe i Komárek
Izgled kolonije	Sferične, višećelijske	Sferične, višećelijske	Male sferične kolonije koje kombinacijom formiraju veliku koloniju	Sferične, uglavnom višećelijske
Veličina kolonije	25-29 µm	Do 85 µm **	Do 40 µm *	20–70 µm
Omotač kolonije	Želatinozni, neslojeviti ili blago slojeviti, čvrsta površina, bezbojni, širina: 4-9 µm	Želatinozni, blago slojeviti (najuočljivije u spoljašnjem delu kolonije), površina čvrsta, bezbojni ili žućasti, širina: 10-14 µm	Slojeviti (najuočljivije u spoljašnjem delu kolonije), površina čvrsta, bezbojni ili svetlo žućasti, širina: 2-4 µm*	Omotači su nekada membranozni na periferiji, žuto braon
Broj ćelija u koloniji	(2) 4–16 (64?)	(1) 2–4 (64)	(1) 2–4*	4–32 (64?)
Veličina ćelija	Dužina: 3–6,5 µm Širina (središnji deo): 1,5–4 µm	Dužina: 12–15 µm Širina (središnji deo): 7,5–10 µm	Dužina: 13–15 µm Širina (središnji deo): 6,5–9 µm	Dužina: do 10 µm Širina (središnji deo): 5–8 µm
Oblik ćelija	Okrugle, ovalne, nepravilno okrugle do bubrežaste	Bubrežaste***	Bubrežaste	Sferične, duguljaste, poligonalne
Boja ćelija	Plavo zelene, maslinasto zelene, žućaste, žuto braon	Bezbojne, bledo žućaste	Maslinasto zelene	Maslinasto zelene
Ćelijski sadržaj	Homogene ili blago granularne	Homogene ili blago granularne	Homogene ili blago granularne	-
Ćelijski omotač	Prisutan, vidljiv samo u ranim stadijumima razvića, kasnije nije vidljiv ili nije prisutan	Prisutan, manje više slojevit i tammiji u spoljašnjim delovima	Prisutan, neprimetan na početku, kasnije vidljiv	Prisutan ili ne, ponekad slojevit
Mirujući stajjumi	Prisutan			Prisutan, površina papilozna

Legenda: * odnosi se na jednu malu koloniju; **podaci dobijeni ili mereni na osnovu ilustracija; *** u razvijenim kolonijama; - podatak nedostaje

Prema novom sistemu klasifikacije (Komárek i sar. 2014), broj taksona u redu Chroococcales je znatno redukovani usled razvijanja novih metoda za identifikaciju vrsta, što se pre svega odnosi na molekularne metode. Isključene su kokoidne forme koje u stadijumu razvića imaju beocite i čija je građa ćelija nešto komplikovanija. Još uvek kod mnogo rodova nije završena molekularna analiza, pre svega zbog

nemogućnosti dobijanja kultura ovih taksona. Rod *Nephrococcus* se još uvek ubraja u ovu grupu i njegova taksonomija je ostala ista kao što je bila i u sistemu predloženom od strane Komárek i Anagnostidis (1998).

Do sada, svi taksoni roda *Nephrococcus* potiču sa vlažnih subaerofitskih staništa (stabla drveća ili vlažni stenoviti kalcerozni supstrati). Na mestu gde je otkriven *N. serbicus* biofilm je bio veoma dobro razvijen, a stenoviti supstrat oštećen usled izrazitog razvoja biofilma. Pri mikroskopiranju zapaženo je da se kolonije *Nephrococcus*-a pojavljuju sporadično, često pojedinačno među drugim cijanobakterijama i algama, a retko u manjim grupama.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu zadatih ciljeva istraživanja i predstavljenih rezultata, izvode se sledeći zaključci:

- Biofilm je sakupljen iz 15 pećina sa teritorije Srbije koje pripadaju geostrukturalnim jedinicama Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije i Karpatobalkanida (Božanina, Ribnička, Hadži Prodanova, Degurićka, Rćanska pećina, pećina Vernjikica, pećina kod Sove, Lazareva, Mandina, Bogovinska, Cerjanska pećina – povremeno vrelo kod Kravljia, Prekonoška, Petnička pećina i pećine Samar i Jezava).
- Uzorci su sakupljeni sa 81 različite tačke (3-8 tačaka po pećini). U pećinama Samar i Jezava biofilm je sakupljan sezonski sa 10 tačaka.
- Prikupljeni su biofilmovi različitog stepena razvijenosti, sadržaja vode i boje, sa pećinskih zidova, tavanice i poda pećine, uglavnom sa stenovitog supstrata, ali ponegde i sa zemlje (mulja).
- Na osnovu razvijenosti, vlažnosti, izgleda i boje, biofilmovi su podeljeni u nekoliko kategorija. Prema razvijenosti na: dobro, srednje i slabo razvijene, odnosno, tanke (nerazvijene) biofilmove. Prema vlažnosti biofilmosi su podeljeni na: želatinozne, suve, biofilmove srednje vlažnosti i vlažne biofilmove. Prema boji, dobro razvijeni biofilmovi se dele na: zelene do tamne i biofilmove jarkih boja (ljubičaste, plave, sive, naranžaste, crvene), gde preovladaju cijanobakterije. Slabo razvijeni biofilmovi su pretežno suvi i praškasti i obično u tankom sloju razvijeni na kamenom supstratu, čija obojenost varira od različitih nijansi zelene (od jako svetle do nešto tamnijih), do žute i narandžaste boje i u njima uglavnom dominiraju zelene alge.
- Temperatura vazduha na ulazu pećina varirala je od 3,7 °C (pećina Jezava, decembar) do 26,1 °C (Lazareva pećina). Vrednosti temperature na tačkama uzorkovanja u okviru jedne pećine, kao i vrednosti relativne vlažnosti vazduha, nisu značajno varirale. Najmanja vrednost relativne vlažnosti vazduha zabeležena je u pećinama Samar i Jezava tokom avgusta (40%), a najveća u

Petničkoj pećini (95%). Vrednosti intenziteta svetlosti su značajno varirale, kako između tačaka uzorkovanja u samoj pećini, tako i između različitih pećina. Najniža vrednost intenziteta svetlosti od 7,5 Lux-a zabeležena je u Lazarevoj pećini, a najviša u Hadži Prodanovoj pećini (4400 Lux).

- Vrednosti ekoloških parametara koji su mereni na svakoj tački uzorkovanja dovedeni su u vezu sa sezonom u kojoj je uzorkovanje vršeno, vremenskim prilikama, prisustvom vodenog toka na ulazu pećine, lokacijom pećine, morfologijom i veličinom pećinskog ulaza, ekspozicije tačke uzorkovanja.
- Koncentracija hlorofila *a* je veoma varirala, kako među tačkama uzorkovanja jedne pećine, tako i među različitim pećinama. Najniža koncentracija hlorofila *a* zabeležena je u pećini Jezava tokom avgusta (JA3), a najveća vrednost od 28,89 $\mu\text{g Chl } a/\text{cm}^2$ u Lazarevoj pećini (L3). Vrednosti koncentracije hlorofila *a* u pećinama Samar i Jezava varirale su u zavisnosti od sezone u kojoj je uzorkovano, pri čemu su najveće vrednosti zabeležene u martu, nešto niže u decembru, a najniže tokom avgusta.
- Sadržaj vode, organske i neorganske materije u biofilmu izraženi po jedinici površine značajno su varirali. Sadržaj vode od 0,03 mg/cm^2 (Réanska pećina, RC3) do 149,04 mg/cm^2 (Lazareva pećina, L3), sadržaj organske materije od 0,03 mg / cm^2 (RC3) do 96,11 mg / cm^2 (Ribnička pećina, R6) i sadržaj neorganske materije od 0,13 mg/cm^2 (Božanina pećina, B4) do 354,23 mg/cm^2 (Lazareva pećina, L1).
- Na osnovu sezonskog uzorkovanja pećina Samar i Jezava zapaža se da su najveće vrednosti svih parametara izraženih po jedinici površine tokom meseca marta.
- Najmanji procentualni udeo vode u biofilmu je u pećini Samar tokom avgusta na tački SA1, a najviši u pećini Jezava u decembru na tački JD1. Najniži procenat neorganske materije zabeležen je u biofilmu na tački R6, a najviši na tački RC3 (96%), dok je najveći procenat organske materije u biofilmu bio u pećini Jezava u avgustu na tački JA3 (75,71%).

- U većini uzoraka biofilma u pećinama Samar i Jezava tokom decembra i marta procentualno dominira voda, dok je u maju i avgustu pretežno zastupljena neorganska komponenta biofilma.
- Na osnovu detaljne analize biofilma koja je uključila metodu adhezivne trake i posebno pripremljene privremene, polutrajne i trajne preparate, iz svih uzoraka biofilma i uzoraka stene, zabeleženo je prisustvo ukupno 290 taksona cijanobakterija i algi koje su svrstane u 4 razdela: Cyanobacteria, Bacillariophyta, Chlorophyta i Xanthophyta. Najveći broj zabeleženih taksona je u razdelu Cyanobacteria (134 taksona), a prati ga razdeo Bacillariophyta sa 129 taksona, razdeo Chlorophyta (26) i na kraju razdeo Xanthophyta, u kome smo identifikovali samo jednog predstavnika.
- Cyanobacteria predstavljaju dominantan razdeo u uzorcima sakupljenog biofilma. Najveći broj predstavnika pripada kokoidnim formama (82 taksona), dok su znatno manjim brojem taksona predstavljene homocitne (32 taksona) i heterocine forme (20 taksona) cijanobakterija. Analizom ekologije zabeleženih predstavika cijanobakterija zaključeno je da su većina predstavika aerofitski taksoni, dok mali broj pripada primarno slatkovodnim.
- Najveći broj taksona Cyanobacteria zabeležen je u rodovima *Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeothece*, *Leptolyngbya* i *Scytonema*. U razdelu Bacillariophyta se po broju taksona izdvajaju rodovi *Luticola*, *Nitzschia*, *Humidophila* i *Gomphonema*, a u razdelu Chlorophyta rod *Cosmarium*. U najvećem broju pećina (više od 10) zabeležene su *Aphanocapsa fusco-lutea* (9), *Gloeocapsa biformis* (10), *Leptolyngbya foveolarum* (12) *Desmococcus olivaceus* (13), *Humidophila contenta* (11) i *Orthoseira roseana* (10).
- Najveći broj taksona zabeležen je u pećini Samar (141 takson), dok je najmanji broj taksona zabeležen u pećini kod Sove (7 taksona). Sa većim brojem zabeleženih taksona izdvajaju se još i Rćanska pećina, Degurićka pećina i Mandina pećina.
- Cyanobacteria po broju taksona dominiraju u odnosu na druge razdjele na svim lokalitetima, osim Rćanske i Bogovinske pećine. Po broju taksona

Cyanobacteria izdvajaju se Božanina pećina, Degurička pećina i pećina Samar. Najveći broj predstavnika razdela Bacillariophyta zabeležen je u Rćanskoj pećini i pećini Samar, gde su takođe bili brojni i predstavnici razdela Chlorophyta. Diverzitetu silikatnih algi u Rćanskoj pećini i pećini Samar je doprinelo prisustvo vode i mahovina na nekim mestima uzorkovanja.

- U pećinama Samar i Jezava zabeležen je veliki broj taksona, kao posledica sezonskog uzorkovanja biofilma. Na velikom broju tačaka uzorkovanja diverzitet aerofitskih cijanobakterija i algi bio je najveći u decembru (i martu), a najmanji u avgustu i maju.
- 24 taksona cijanobakterija i algi zabeleženo je u sve četiri sezone u pećini Samar, a samo 3 taksona u pećini Jezava. Veliki broj taksona zabeležen je u samo jednoj sezoni. Prepostavljamo da je glavni uzrok tome razlika u mikroklimatskim parametrima i posledica razlike u mikrostaništu.
- Diverzitet kroz sezone bio je ujednačeniji na tačkama na kojima je zabeležen suvliji biofilm i na kojima su mereni ujednačeniji ekološki parametri kroz sezone.
- Na osnovu kvantitativne analize uzoraka biofilma iz tri odabrane pećine, taksoni *Asterocapsa cf. purpurea* na tački D3, *Trebouxia* sp. na tački V2 i *Desmococcus olivaceus* na tački V4 su imali najveći broj jedinki, ćelija i biomasu, a bili su i dominantin u biofilmu. Sa druge strane, različiti taksoni su imali maksimalne vrednosti broja jedinki, ćelija i biomase u većini uzoraka, što je naročito izraženo na tačkama D1, D4, V1. U Deguričkoj pećini, najveću biomasu na svim tačkama imaju predstavnici cijanobakterija, na većini tačaka kokoidni, a u pećini Vernjikica u zavisnosti od tačke uzorkovanja, po biomasi dominiraju predstavnici različitih razdela. Na tački D1 je izračunata najveća biomasa, visok sadržaj vode i povećana koncentracija hlorofila *a*. U pećini Vernjikica, na tački V5 gde je izračunata najveća biomasa, zabeležen je visok sadržaj organske materije.

- Skening elektronskom mikroskopijom uočene su razlike između različitih tipova biofilma. Uzorak kamena koga kolonizuje endolitska cijanobakterija pokazao je prisustvo trihalnog taksona koji najverovatnije ima sposobnost da aktivno razara supstrat.
- Iz biofilma iz Božanine pećine sa tačke B8 opisana je nova vrsta cijanobakterije za nauku *Nephrococcus serbicus* S. Popović, G. Subakov Simić i J. Komárek, *sp. nov.*
- Petrografska analiza je pokazala da je većina uzoraka stene krečnjak, koji je kategorisan u pet grupa.
- Statistička obrada podataka pokazala je da su taksoni Cyanobacteria dominirali na lokalitetima geostruktурне jedinice Unutrašnjih Dinarida zapadne Srbije, a predstavnici razdela Bacillariophyta u pećinama Karpato-balkanida.
- Predstavnici razdela Cyanobacteria su pokazali korelaciju sa rekristalizacijom i organogenim krečnjakom, dok su pripadnici Bacillariophyta u većoj meri zabeleženi na klasičnom i mikritskom krečnjaku.
- Zaključeno je da cijanobakterije uglavnom dominiraju u dobro razvijenim i želatinoznim biofilmovima, zelene u tankim, suvim i praškastim biofilmovima, a silikatne alge u tankim i vlažnim biofilmovima.
- Silikatne alge su bile korelisane sa biofilmom na horizontalnoj površini i promenljivom koja se odnosi na unutrašnjost pećina.
- Dobro razvijeni biofilmovi koji su dominirali na ulazima pećina pokazali su korelaciju sa intenzitetom svetlosti, dok su slabije razvijeni bili prisutni u unutrašnjosti pećine. Koncentracija hlorofila *a* pokazala je pozitivnu korelaciju sa dobro razvijenim biofilmovima, sa težinom biofilma (odnosno sa sva tri parametra biofilma), među kojima su sadržaj organske materije i sadržaj vode, ali i sa biofimom koji se razvija na horizontalnoj površini. Korelacija sa intenzitetom svetlosti nije uočena.

7. LITERATURA

- Abdelahad N. 1989. On four Myxosarcina like species (Cyanophyta) living in the Inferniglio cave (Italy). Archiv für Hydrobiology Algological Studies 54: 3–13.
- Abdelahad N. and Bazzichelli G. 1988. Geitleria calcarea Friedmann, Cyanophycée cavernicole nouvelle pour l'Italie. Nova Hedwigia 46: 265–270.
- Aboal M., Asencio A.D. and Prefasi M. 1994. Studies on cave cyanophytes from Southeastern Spain: *Scytonema julianum* Meneghini. Archiv für Hydrobiology Algological Studies 75: 31–36.
- Aboal M., Asencio A.D. and Lopez-Jiménez E. 2003. Morphological, ultrastructural and ecological study of *Asterocapsa divina* Komárek (Chroococcaceae, Cyanobacteria) from a cave of South Eastern Spain. Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies 109: 57–65.
- Ahmadjian V. 1988. The lichen alga Trebouxia: Does it occur free-living? Plant Systematics and Evolution 158: 243–247.
- Albertano P. 1993. Epilithic algal communities in hypogean environments. Giornale botanico italiano 127 (3): 386–392.
- Albertano P. 2012. Cyanobacterial biofilms in monuments and caves. In: Whitton B.A. (Ed), Ecology of Cyanobacteria II: their diversity in space and time. Springer, Netherlands.
- Albertano P. and Urzì C. 1999. Structural interaction among epilithic cyanobacteria and heterotrophic microorganisms in Roman hypogea. Microbial Ecology 38: 244–252.
- Albertano P., Bruno L., D’Ottavi D., Moscone D. and Palleschi G. 2000. Effect of photosynthesis on pH variation in cyanobacterial biofilms from Roman catacombs. Journal of Applied Phycology 12: 279–384.
- Altieri A., Pietrini A.M. and Ricci S. 1993. Un’associazione di alghe e muschi in un sito archeologico ipogeo. Giornale Botanico Italiano 127: 611.
- Anagnostidis K., Economou-Amilli A. and Pantazidou A. 1982. On the microflora of cave Perama, Ioannina. Bulletin de la Société Spéléologie de Grèce 18: 458-530.
- Ariño X., Hernández-Mariné M. and Saiz-Jiménez C. 1997. Colonization of Roman tombs by calcifying cyanobacteria. Phycologia 36: 366–373.

- Arthur R. and Grossman A.R. 2003. A molecular understanding of complementary chromatic adaptation. *Photosynthesis Research* 76: 207–215.
- Asencio A.D. and Aboal M. 1996. Cyanophytes from Andragulla cave (Murcia, SE Spain) and their environmental conditions. *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 83: 55–72.
- Asencio A.D. and Aboal M. 2000a. A contribution to knowledge of chasmoendolithic algae in cave-like environments. *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 98: 133–151.
- Asencio A.D. and Aboal M. 2000b. Algae from La Serreta cave (Murcia, SE Spain) and their environmental conditions. *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 96: 59–78.
- Asencio A.D. and Aboal M. 2001. Biodeterioration of wall paintings in caves of Murcia (SE Spain) by epilithic and chasmoendolithic microalgae. *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 140: 131–142.
- Asencio A.D. and Aboal M. 2004. Cell inclusions in the chasmoendolithic Cyanophytes from cave-like environments in Murcia (SE Spain). *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 113: 117–127.
- Asencio A.D. and Aboal M. 2011. In situ acetylene reduction activity of *Scytonema julianum* in Vapor cave (Spain). *International Journal of Speleology* 40 (1): 17–21.
- Asencio A.D., Aboal M. and Hoffmann L. 1996. A new cave-inhabiting blue-green alga: *Sympyonema cavernicolum* sp. nova (Mastigocladaceae, Stigonematales). *Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies* 83: 73–82.
- Azúa-Bustos A., González-Silva C., Mancilla C.A., Salas L., Palma R.E., Wynne J.J., McKay C.P. and Vicuña R. 2009. Ancient photosynthetic eukaryote biofilms in an Atacama desert coastal cave. *Microbial Ecology* 58: 485–496.
- Badger M.R., Hanson D.T. and Price G.D. 2002. Evolution and diversity of CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria. *Functional Plant Biology* 29: 407–416.

- Balskus E.P. and Walsh C.T. 2008. Investigating the initial steps in the biosynthesis of cyanobacterial sunscreen scytonemin. *Journal of the American Chemical Society* 130: 15260–15261.
- Balskus E.P., Case R.J. and Walsh C.T. 2011. The biosynthesis of cyanobacterial sunscreen scytonemin in intertidal microbial mat communities. *FEMS Microbial Ecology* 77 (2): 322–332.
- Bastian F. and Alabouvette C. 2009. Lights and shadows on the conservation of a rock art cave: the case of Lascaux Cave. *International Journal of Speleology, Special Issue Cave Microbiology* 38: 55–60.
- Baqué M., Vera J.P., Rettberg P. and Billi D. 2013. The BOSS and BIOMEX space experiments on the EXPOSE-R2 mission: Endurance of the desert cyanobacterium Chroococcidiopsis under simulated space vacuum, Martian atmosphere, UVC radiation and temperature extremes. *Acta Astronautica* 9: 180–186.
- Beltrán J.A. and Asencio A.D. 2009. Cyanophytes from the L'Aigua cave (Alicante, SE Spain) and their environmental conditions. *Algological Studies* 132: 21–34.
- Bergey E., Cooper J.T. and Phillips B.C. 2010. Substrate characteristics affect colonization by the bloom-forming diatom *Didymosphenia geminata*. *Aquatic Ecology* 44 (1): 33-40.
- Best M.G. 2003. Igneous and metamorphic petrology, second edition. Blackwell Publishing, USA, UK.
- Bilbija N. and Matović V. 2009. Primjenjena petrografija: svojstva i primene kamena. Građevinska knjiga, Beograd.
- Billi D., Baqué M., Smith H.D. and McKay C.P. 2013. Cyanobacteria from Extreme Deserts to Space. *Advances in Microbiology* 3: 80-86.
- Björn L.O. 2015. Photobiology. The Science of Light and Life; Second edition. Springer.
- Blaženčić J. 1998. Sistematika algi. U: Doncev N. (Ed.) Sistematika algi. Naučna Knjiga, Beograd, Jugoslavija.
- Boggs S. 2009. Petrology of Sedimentary Rocks; Second Edition. Cambridge University Press, New York.

- Bonewitz R.L. 2008. Rock and Minerals; The definitive visual guide. Dorling Kindersley, London.
- Borderie B., Laurence A.S., Naoufal R., Faisl B., Geneviève O., Dominique R. and Badr A.S. 2011. UV-C irradiation as a tool to eradicate algae in caves. International Biodeterioration and Biodegradation 65: 579-584.
- Borderie F., Tête N., Cailhol D., Alaoui-Sehmer L, Bousta F, Rieffel D., Aleya L. and Alaoui-Sossé B. 2014. Factors driving epilithic algal colonization in show caves and new insights into combating biofilm development with UV-C treatments. Science of the Total Environment 484: 43–52.
- Borzì A. 1917. Studi sulle Mixoficee. Nuovo Giornale Botanico Italiano 24: 100-112.
- Bourelly P. and Dupuy P. 1973. Quelques stations françaises de Geitleria calcarea, Cyanophycée cavernicole. Schweizerische Zeitschrift für Hydrobiology, Fishereiwissenschaft, Abwasserreinigung 35: 136-140.
- Broady P.A. and Ingerfeld M. 2007. Three new species and a new record of chaetophoracean (Chlorophyta) algae from terrestrial habitats in Antarctica. European Journal of Phycology 28 (1): 25-31.
- Brošura SEM LAB 2011. Brošura SEM LAB. Laboratorija za skenirajuću elektronsku mikroskopiju, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Zgrada Hemijskog fakulteta, Studentski trg 12-16, Beograd, Prvi suteren, soba 242.
- Bryanskaya A.V., Namsaraev Z.B., Kalashnikova O.M. and Barkhutova D.D. 2006. Biogeochemical Processes in the Algal–Bacterial Mats of the Urinskii Alkaline Hot Spring. Microbiology 75: 611–620.
- Cañaveras J.C., Sanchez-Moral S., Soler V. and Saiz-Jimenez C. 2001. Microorganisms and microbially induced fabrics in cave walls. Geomicrobiology Journal 18: 1521–1529.
- Casamatta D.A., Verb R.G., Beaver J.R. and Vis M.L. 2002. An investigation of the cryptobiotic community from sandstone cliffs in Southeast Ohio. International Journal of Plant Sciences 163 (5): 837–845.
- Castenholz R. and Garcia-Pichel F. 2012. Cyanobacterial responses to UV radiation. In: Whitton B.A. (Ed) Ecology of Cyanobacteria II: their diversity in space and time. Springer, Netherlands.

- Cennamo P., Marzano C., Giorgio A., Caputo P. and Moretti A. 2009. Bioincrustations in the Church of Saint Maria of Piedigrotta (Pizzo Calabro, Italy). Proceedings 4th International Coongress on Science and Technology for the Safeguard of Cultural Heritage in the Mediteranean Basin, Vol 2. Cairo. 6 – 8 december. 272 – 275.
- Cennamo P., Marzano C., Ciniglia C., Pinto G., Cappelletti P., Caputo P. and Pollio A. 2012. A survey of the algal flora of anthropogenic caves of Campi Flegrei (Naples, Italy) archeological district. *Journal of Cave and Karst Studies* 74 (3): 243–250.
- Chang W.S., van de Mortel M., Nielsen L., de Guzman G.N., Li X.H., Halverson L.J. 2007. Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions. *Journal of Bacteriology* 189: 8290-8299.
- Chodat R. 1909. Étude critique et expérimentale sur le polymorphisme des algues. Georg & Cie, Genève. 165 p.
- Chu H. 1952. Some new Myxophyceae from Szechwan province China. *The Ohio Journal of Sciences* 21: 96–101.
- Claus G. 1962. Data on the ecology of algae of Peace Cave in Hungary. *Nova Hedwigia* 21: 55–79.
- Claus G. 1964. Algae and their mode of life in the Baradla Cave at Aggtelek II. *International Journal of Speleology* 1: 13-17.
- Collins C.H. and Lyne P.M. 2004. Microbiological methods, 8th edition. Butterworths, London.
- Cox G., Benson D. and Dwarte D.M. 1981. Ultrastructure of a cave wall cyanophyte, *Gloeocapsa NS4*. *Archives of Microbiology* 130: 165–174.
- Cuezva S., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. and Canaveras J.C. 2009. Microbial communities and associated mineral fabrics in Altamira caves. *International Journal of Speleology* 38: 83–92.
- Cvijan M. and Fužinato S. 2011. Ekologija algi, skripta. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
- Czerwic-Marcinkowska J. 2013. Observations on aerophytic cyanobacteria and algae from ten caves in the Ojców national park. *Acta Agrobotanica* 66 (1): 39–52.

- Czerwic-Marcinkowska J. and Mrozińska T. 2009. Epilithic algae from caves of the Krakowsko-Częstochowska Upland (Southern Poland). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 78 (4): 301–309.
- Czerwic-Marcinkowska J. and Mrozińska T. 2010. The protection of pro- and eukaryotic algae of extreme caves habitat in the Ojców National Park. *Prądnik* 20: 165–174.
- Czerwic-Marcinkowska J. and Mrozińska T. 2011. Algae and cyanobacteria in caves of the polish jura. *Polish Botanical Journal* 56 (2): 203–243.
- Czerwic-Marcinkowska J., Wojciechowska A. and Massalski A. 2015. Biodiversity of limestone caves: aggregations of aerophytic algae and cyanobacteria in relation to site factors. *Polish Journal of Ecology* 63: 481–499.
- Davies W.E. and Morgan I.M. 1991. Geology of Caves. U.S. Geological Survey, Washington.
- Davis J.S. and Rands D.G. 1982. Lime incrusting *Hapalosiphon intricatus* (Cyanophyceae) and phosphate availability in a Florida cave. *Schweizerische Zeitschrift Fur Hydrologie-Swiss Journal of Hydrology* 44: 289–294.
- Dayner D.M. and Johansen J.R. 1991. Observation on the Algal Flora of Seneca Cavern, Seneca County, Ohio. *Ohio Journal of Science* 91 (3): 118 -121.
- De los Rios A., Ascaso C., Wierzchos J., Fernández-Valiente E. and Quesada A. 2004. Microstructural Characterization of Cyanobacterial Mats from the McMurdo Ice Shelf, Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (1): 569–580.
- De Muynck W., N.De Belie and Verstraete W. 2010. Microbial Carbonate Precipitation in Construction Materials: A Review. *Ecological Engineering* 36 (2): 118–136.
- Debnath M., Mandal N.C. and Ray S. 2009. The Study of Cyanobacterial Flora from Geothermal Springs of Bakreswar, West Bengal, India. *Algae* 24: 185-193.
- Dobat K. 1977. Zur Ökogenese und Ökologie der Lampenflora deutscher Schauhohlen. In: Frey W. (Ed) *Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart: 177-215.
- Donlan R.M. 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases Journal* 8 (9): 881–890.

- Donner A. 2013. The case of Chroococcidiopsis: New phylogenetic and morphological insights into ecologically important Cyanobacteria. Doctoral dissertation. Technischen Universität Kaiserslautern.
- Dor I. and Dor Y. 1999. Cyanobacterial flora of the Soreq stalactite Cave (Israel) and way of its control. Archiv fur Hydrobiologie. Supplementband: Algological Studies 94: 115–120.
- Dye A.H. and White D.R.A. 1991. Intertidal microalgal production and molluscan herbivory in relation to season and elevation on two rocky shores on the east coast of Southern Africa. South African Journal of Marine Science 11: 483-489.
- Đorđević V., Đorđević P. i Milovanović D. 1991. Osnovi Petrologije. Nauka, Beograd.
- Đurović P. 1998. Speleološk atlas Srbije. Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd.
- Eggert A., Häubner N., Klausch S., Karsten U. and Schumann R. 2006. Quantification of algal biofilms colonising building materials: chlorophyll a measured by PAM-fluorometry as a biomass parameter. Biofouling 22 (1-2): 79-90.
- Ercegović A. 1925. Litofitska vegetacija vapnenaca i dolomita u Hrvatskoj. La végétation lithophytes sur les calcaires et les dolomites en Croatie. Acta Botanica Instituti Botanici Universitatis Zagabiensis 10: 64-114.
- Ettl H. 1978. Xanthophyceae. 1. Teil. In: Ettl H., Gerloff J. and Heynig H. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, 3. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Ettl H. 1980. Xanthophyceae. 2. Teil. In: Ettl H., Gerloff J. and Heynig H. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, 4. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Ettl H. and Gärtner G. 1988. Chlorophyta II, Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, 10. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Faimon J., Štelcl J., Kubešová S. and Zimák J. 2002. Environmentally acceptable effect of hydrogen peroxide on cave “lamp-flora”, calcite speleothems and limestones. Environmental Pollution 122: 417-422.
- Falasco E., Ector L., Isaia M., Wetzel C.E., Hoffmann L. and Bona F. 2014. Diatom flora in subterranean ecosystems: a review. International Journal of Speleology 43 (3): 231–251.

- Filipović B., Krunic O. and Lazić M. 2005. Regional hydrogeology of Serbia. Faculty of Mining and Geology, Belgrade 401 pp.
- Flann C., Turland N.J. and Monro A.M. 2014. Report on botanical nomenclature—Melbourne 2011. XVIII International Botanical Congress, Melbourne: Nomenclature Section, 18–22 July 2011. PhytoKeys 41: 1–289.
- Folk R.L. 1980. Petrology of Sedimentary Rocks. Hemphill Publishing Company, Austin, Texas. 182 pp.
- Friedmann I. 1955. *Geitlerea calcarea* n. gen. et n. sp. A new atmophytic lime-incrusting blue-green alga. *Botaniska Notiser* 108: 439–445.
- Friedmann I. 1961. *Chroococcidiopsis kashaii* sp. n. and the genus *Chroococcidiopsis*. *Österreichische Botanische Zeitschrift* 108: 354–367.
- Friedmann I. 1964. Progress in the biological exploration of caves and subterranean waters in Israel. *International Journal of Speleology* 1: 29–33.
- Friedmann I. 1979. The genus *Geitleria* (Cyanophyceae or Cyanobacteria): Distribution of *G. calcarea* and *G. floridana* n.sp. *Plant Systematics and Evolution* 131: 169–178.
- Garašić M. 1991. Morphological and Hydrogeological Classification of Speleological Structures (Caves and Pits) in the Croatian Karst Area. *Geološki Vjesnik* 44: 289–300.
- Garbacki N., Ector L., Kostikov I. and Hoffmann L. 1999. Contribution à l'étude de la flore des Grottes de Belgique. *Belgian Journal of Botany* 132 (1): 43–76.
- Gracia-Alonso C.A. 1974. *Geitleria calcarea* Friedmann nueva alga cavernicola para España: *Speleon* 21: 133–136.
- Gaylarde P.M. and Gaylarde C.C. 1998. A rapid method for the detection of algae and cyanobacteria on the external surfaces of buildings. In: Gaylarde C.C., Barbosa T.C.P and Gabilan N.H. (Eds.) Third Latin American Biodegradation and Biodeterioration Symposium. The British Phycological Society, UK, 37 p.
- Giordano M., Mobili F., Pezzoni V., Hein M.K. and Davis J.S. 2000. Photosynthesis in the caves of Frasassi (Italy). *Phycologia* 39: 384–389.
- Golubić S. 1967. Algenvegetation der Felsen, eine ökologische Algenstudie im dinarischen Karstgebiet. In: Elster H.J. and Ohle W. (Eds.) Die Binnengewässer, vol 23. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

- Golubić S., Friedmann I. and Schneider J. 1981. The lithobiontic niche, with special reference to microorganisms. *Journal of Sedimentary Petrology* 51: 475–478.
- Gorbushina A.A. 2007. Life on the rocks. *Environmental Microbiology* 9 (7): 1613–1631.
- Grobbelaar J.U. 2000. Lithophytic algae: A major threat to the karst formation of show caves. *Journal of Applied Phycology* 12: 309–315.
- Gu J-D. and Mitchell R. 2006. Biodeterioration. *Prokaryotes* 1: 864–903.
- Guillitte O. 1995. Bioreceptivity: a new concept for building ecology studies. *Science of the Total Environment* 167 (1-3): 215–220.
- Gustavs L. 2010. Biodiversity and ecophysiology of aeroterrestrial green algae (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). Doktorska disertacija. Univerzitet Rostock, Nemačka.
- Gunn J. 2004. Encyclopedia of Caves and Karst Science. Taylor and Francis Group, New York, USA.
- Grilli-Cailola M. and Billi D. 2007. Chroococcidiopsis from desert to Mars. In: Seckbach J. (Ed.) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer, Dordrecht.
- Hauer T., Mühlsteinova R., Bohunická M., Kaštovský J. and Mereš J. 2015. Diversity of cyanobacteria on rock surfaces. *Biodiversity and Conservation* 24: 759–779.
- Hajdu I. 1966. Algological studies in the cave of Matyas Mount, Budapest, Hungary. *International Journal of Speleology* 2: 137–149.
- Helm R.F. and Potts M. 2012. Extracellular Matrix (ECM). In: Whitton B.A. (Ed.) *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*. Springer.
- Hernández-Mariné M. and Canals T. 1994. Herpyzonema pulverulentum (Mastigocladaceae), a new cavernicolous atmophytic and limeincrusted cyanophyte. *Archiv für Hydrobiology Algological Studies* 75: 123–136.
- Hernández-Mariné M., Asencio A.D., Canals A., Ariño X., Aboal M. and Hoffmann L. 1999. Discovery of populations of the lime-encrusting genus Loriella (Stigonematales) in Spanish caves. *Archiv für Hydrobiology Algological Studies* 94: 121–138.

- Hernández-Mariné M., Roldán M., Clavero E., Canals A. and Ariño X. 2001. Phototrophic biofilm morphology in dim light. The case of the Puigmoltó sinkhole. *Nova Hedwigia* 123: 237–253.
- Hernández-Mariné M., Clavero E. and Roldán M. 2004. Microscopy methods applied to research on cyanobacteria. *Limnetica* 23 (1-2): 179-186.
- Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschelt D., Pollingher U. and Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology* 35 (2): 403-424.
- Holzinger A. and Karsten U. 2013. Desiccation stress and tolerance in green algae: consequences for ultrastructure, physiological and molecular mechanisms. *Frontiers in Plant Science* 4: 327.
- Hoffmann L. 2002. Caves and other low-light environments: aerophytic photoautotrophic microorganisms. In: Bitton G. (Ed.) *Encyclopedia of environmental microbiology*. Wiley, New York. pp 835–843.
- Hofmann G., Werum M. and Lange-Bertalot H. 2013. Diatomeen im Süßwasser - Benthos von Mitteleuropa. Bestimmungsflora Kieselalgen für die ökologische Praxis. Über 700 der häufigsten Arten und ihre Ökologie. pp 1-908, 133 pls. Koeltz Scientific Books, Königstein.
- Hu C., Gao K. and Whitton B.A. 2012. Semi-arid Regions and Deserts. In: Whitton B.A. (Ed.) *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*. Springer
- Huber-Pestalozzi G., Komárek J. and Fott B. 1983. Das Phytoplankton des Süßwasser. Band XVI, 7. Teil, 1. Hälfte. Chlorophyceae, Ordnung: Chlorococcales. In: Elster H.J. and Ohle W.E. (Eds.) *Die Binnengewässer*. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Hueck H.J. 1965. The biodeterioration of materials as part of hylobiology. *Materials und Organismen* 1 (1): 5-34.
- ISO 10260:1992 - Water quality - Measurement of biochemical parameters – Spectrometric determination of the chlorophyll – a concentration.
- Johansen J. R. 1999. Diatoms in aerial habitats. In: Stoermer E.F. and Smol J.P. (Eds.) *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. pp 264-276. Cambridge University Press, United Kingdom.

- John D.M., Whitton B.A. and Brook A.J. 2003. The Freshwater Algal Flora of the British Isles: an Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae: Cambridge University Press, UK. 702 pp.
- Jones H.J. 1964. Algological investigations in Mammoth Cave, Kentucky. International Journal of Speleology 1: 491-516.
- Karsten U. and Holzinger A. 2012. Light, temperature and desiccation effects on photosynthetic activity and drought-induced ultrastructural changes in the green alga *Klebsormidium dissectum* (Streptophyta) from a high alpine soil crust. Microbial Ecology 63: 51–63.
- Kashima N., Irie T. and Kinoshita N. 1987. Diatom, contributors of corallloid speleothems, from Togawa-Sakaidani-Do Cave in Miyazaki Prefecture, Central Kyushu, Japan. International Journal of Speleology 16: 95-100.
- Keshari N. and Adhikary S.P. 2014. Diversity of cyanobacteria on stone monuments and building facades of India and their phylogenetic analysis. International Biodeterioration and Biodegradation 90: 45–91.
- Khaybullina L.S., Gaysina L.A., Johansen J.R. and Krautová M. 2010. Examination of the terrestrial algae of the Great Smoky Mountains National Park, USA. Fottea 10 (2): 201–215.
- Klemenčič A.K. and Vrhovšek D. 2005. Algal flora of Krška Jama Cave, Slovenia. Acta Musei Nationalis Pragae, Series B, Historia Naturalis 61 (1–2): 77–80.
- Knott N.A., Underwood A.J., Chapman M.G. and Glasby T.M. 2004. Epibiota on vertical and on horizontal surfaces on natural reefs and on artificial structures. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 84: 1117–1130.
- Komárek J. (2013): Cyanoprokaryota. 3. Teil: Heterocytous Genera. In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. and Schagerl M. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Springer, Spektrum Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Komárek J. and Anagnostidis K. 1998. Cyanoprokariota. 1. Teil: Chroococcales. In: Ettl H., Gärtner G., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.

- Komárek J. and Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota. 2. Teil: Oscillatoriales. In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. and Schagerl M. (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Komárek J. and Montejano G. 1994. Taxonomic evaluation of several Chlorogloea species (Cyanoprokaryota) from inland biotopes. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie*, Supplement Volumes 74: 1-26.
- Komárek J., Kaštovský J., Ventura S., Turicchia S. and Šmarda J. 2009. The cyanobacterial genus *Phormidesmis*. *Algological Studies* 129: 41-59.
- Komárek J., Kaštovský J. and Jezberová J. 2011. Phylogenetic and taxonomic delimitation of the cyanobacterial genus *Aphanothece* and description of *Anathece* gen. nov. *European Journal of Phycology* 46 (3): 315–326.
- Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. and Johansen J.R. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia* 86: 295–335.
- Kopalová K., Elster J., Nedbalová L. and Van de Vijver B. 2012. Three New Terrestrial Diatom Species From Seepage Areas On James Ross Island (Antarctic Peninsula Region). *Diatom Research* 24 (1): 113-122.
- Kharkongor D. and Ramanujam P. 2017. Antioxidant Activities of Four Dominant Species of Trentepohlia (Trentepohliales, Chlorophyta). *International Journal of Complementary & Alternative Medicine* 8 (5): 00270.
- Kol E. 1966. Algal growth experiments in the Baradla Cave at Aggtelek (Biospeleologica hungarica XXI). *International Journal of Speleology* 2: 457-474.
- Krammer K. 1997. Die cymbelloiden Diatomeen. Eine Monographie der weltweit bekannten Taxa. Teil 2: *Encyonema* part., *Encyonopsis* und *Cymbelopsis*. In: Lange-Bertalot H. and Kociolek P. (Eds.) *Bibliotheca Diatomologica* 37. J. Cramer, Berlin-Stuttgart.
- Krammer K. 2000. The genus *Pinnularia*. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) *Diatoms of Europe: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats*, 1. Gantner Verlag, Ruggell.

- Krammer K. 2002. *Cymbella*. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) *Diatoms of Europe: Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats*, 4. Gantner Verlag, Ruggell.
- Krammer K. 2003. *Cymbopleura*, *Delicata*, *Navicymbula*, *Gomphocymbelopsis*, *Afrocymbella*. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) *Diatoms of Europe: Diatoms of the European Inland waters and Comparable Habitats*, 4. Gantner Verlag, Ruggell.
- Krammer K. and Lange-Bertalot H. 1986. *Bacillariophyceae*. 1. Teil: *Naviculaceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/1*. G. Fischer Verlag, Jena.
- Krammer K. and Lange-Bertalot H. 1988. *Bacillariophyceae*. 2. Teil: *Bacillariaceae*, *Epithemiaceae*, *Surirellaceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/2*. G. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
- Krammer K. and Lange-Bertalot H. 1991. *Bacillariophyceae*. 4. Teil: *Achnanthaceae*. Kritische Ergänzungen zu *Navicula* (Lineolatae) und *Gomphonema*. In: Ettl H., Gartner G., Gerloff J., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/4*. G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Krammer K. and Lange-Bertalot H. 2004. *Bacillariophyceae*. 3. Teil: *Centrales*, *Fragilariaeae*, *Eunotiaceae*. In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. and Mollenhauer D. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/3*. Elsevier GmbH, Munchen.
- Kranner I., Beckett R., Hochman A. and Nash T. H. III 2008. Desiccation-tolerance in lichens: a review. *Bryologist* 111: 576–593.
- Krieger W. and Gerloff J. 1962. *Die gattung Cosmarium*. Verlag Von J. Cramer. Weinheim.
- Krivograd-Klemenčič A. 2007. Algae in selected aquatic and terrestrial habitats – floristic and ecological view: dissertation thesis. University of Ljubljana, Ljubljana, 210 pp.
- Kumar A.S. and Mody K. 2009. Microbial Exopolysaccharides: Variety and Potential Applications. *Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors*. Caister Academic Press.
- Kumar N.S., Kumar R., Singh S. and Brown R.M. 2007. Airborne algae: their present status and relevance. *Journal of Phycology* 43: 615–627.

- Lamprinou V., Pantazidou A., Papadogiannaki G., Radea C. and Economou-Amilli A. 2009. Cyanobacteria and associated invertebrates in Leontari Cave, Attica (Greece). *Fottea* 9: 155–164.
- Lamprinou V., Hernández-Marine M., Canals T., Kormas K., Economou-Amilli A. and Pantazidou A. 2011. Morphology and molecular evaluation of *Iphinoe spelaeobios* gen. nov., sp. nov. and *Loriellopsis cavernicola* gen. nov., sp. nov., two stigonematalean cyanobacteria from Greek and Spanish caves. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61: 2907-2915.
- Lamprinou V., Danielidis D.B., Economou-Amilli A. and Pantazidou A. 2012a. Distribution survey of Cyanobacteria in three Greek caves of Peloponnese. *International Journal of speleology* 41 (2): 267–272.
- Lamprinou V., Skaraki K., Kotoulas G., Economou- Amilli A. and Pantazidou A. 2012b. *Toxopsis calypsus* gen. nov., sp. nov. (Cyanobacteria, Nostocales) from cave Franchti, Peloponnese, Greece – a morphological and molecular evaluation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62 (Pt_12): 2870-2877.
- Lamprinou V., Hernández-Mariné M., Pachiadakic M.G., Kormasc K., Economou-Amillia A. and Pantazidou A. 2013a. New findings on the true-branched monotypic genus *Iphinoe* (Cyanobacteria) from geographically isolated caves (Greece). *Fottea* 13 (1): 15-23.
- Lamprinou V., Skaraki K, G. Kotoulas G and Anagnostidis K. 2013b. A new species of *Phormidium* (Cyanobacteria, Oscillatoriales) from three Greek Caves: morphological and molecular analysis. *Fundamental Applied Limnology* 182 (2): 109-116.
- Lamprinou V., Danielidis D.B., Pantazidou A., Oikonomou A. and Economou-Amilli A. 2014. The show cave of Diros vs. wild caves of Peloponnese, Greece – distribution patterns of Cyanobacteria. *International Journal of Speleology* 43 (3): 335-342.
- Lange W. 1976. Speculations on a possible essential function of the gelatinous sheath of blue-green algae. *Canadian Journal of Microbiology* 22: 1181–1185.
- Lange-Bertalot H. 2001. *Navicula* sensu stricto. 10 Genera Separated from *Navicula* sensu lato. *Frustulia*. Vol. 2. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) *Diatoms of Europe*:

- Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats. Gantner Verlag, Ruggell.
- Lazarević R. 1998. Kras Dubašnice, Gornjana i Majdanpeka. Srpsko geografsko društvo, Beograd.
- Le Metayer-Levrel G. Castanier S., Orial G., Loubier J.F. and Perthuisot J.P. 1999. Applications of Bacterial Carbonatogenesis to the Protection and Regeneration of Limestones in Buildings and Historic Patrimony. *Sedimentary Geology* 126 (1–4): 25–34.
- Leclerc J. C. Couté A. and Dupuy P. 1983. Le climat annuel de deux grottes et d'une église du Poitou. *Cryptogamie Algologie* 4: 1-19.
- Lefèvre M. Laporte G. and Bauer J. 1964. Sur les microorganismes envahissant les peintures rupestres de la grotte préhistorique de Lascaux. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 258: 5116–5118.
- Lenzenweger R. 1999. Desmidiaceenflora von Österreich, Teil 3. In: Kies L. and Schnetter R. (Eds.) *Bibliotheca Phycologica* 104. J. Cramer, Berlin, Stuttgart.
- Lenzenweger R. 2003. Desmidiaceenflora von Österreich, Teil 4. In: Kies L. and Schnetter R. (Eds.) *Bibliotheca Phycologica* 111. J. Cramer, Berlin, Stuttgart.
- Levkov Z. 2009. Amphora sensu lato. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) Diatoms of Europe: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats, 5. Gantner Verlag, Ruggell.
- Levkov Z., Metzeltin D. and Pavlov A. 2013. Luticola and Luticulopsis. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) Diatoms of Europe: Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats, 7. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- Levkov Z., Mitic-Kopanja D. and Reichardt E. 2016. The diatom genus *Gomphonema* from the Republic of Macedonia. In: Lange-Bertalot H. (Ed.) Diatoms of Europe: Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats, 8. Koeltz Botanical Books, Koenigstein, Germany.
- Lewis L.A. 2007. Chlorophyta on land: Independent Lineages of Green Eukaryotes from Arid Lands. In: Seckbach J. (Ed.) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer.
- Li Y.Y. 1984. Nephrococcus, a new genus of the Chroococaceae (Cyanophyta). *Acta Phytotaxonomica Sinica* 22 (3): 191-192.

- Ljaljević Grbić M., Vukojević J., Subakov Simić G., Krizmanić J. and Stupar M. 2010. Biofilm forming cyanobacteria, algae and fungi on two historic monuments in Belgrade, Serbia. *Archives of Biological Sciences* 62 (3): 625-631.
- Lopez-Bautista J.M., Rindi F. and Casamatta D. 2007. The systematic of subaerial algae. In Seckbach J. (Ed.) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer.
- Lowe R.L., Kociolek P., Johansen J.R., Van De Vijver B., Lange-Bertalot H. and Kopálová K. 2014. *Humidophila* gen. nov., a new genus for a group of diatoms (Bacillariophyta) formerly within the genus *Diadesmis*: species from Hawaii, including one new species. *Diatom Research* 29 (4): 351 – 360.
- Lundberg J. and McFarlane D.A. 2011. Subaerial freshwater phosphatic stromatolites in Deer Cave, Sarawak – a unique geobiological cave formation. *Geomorphology* 128: 57–72.
- Macedo M.F., Miller A.Z., Dionisio A. and Saiz-Jimenez C. 2009. Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the Mediterranean Basin: an overview. *Microbiology* 155: 3476-3490.
- Marathe K. and Chaudhari P. 1975. An example of algae as pioneers in the lithosphere and their role in rock corrosion. *Journal of Ecology* 63: 65-69.
- Mareš J., Kaštovský J., McGregor G. and Komárek J. 2008. The little known pseudofilamentous cyanobacterium *Wolskyella* (Synechococcales). *Nova Hedwigia* 87 (1-2): 221-230.
- Mareš J., Hrouzek P., Kaňa R., Ventura S., Struneký O. and Komárek J. 2013. The primitive thylakoid-less cyanobacterium *Gloeobacter* is a common rock-dwelling organism. *PLoS ONE* 8 (6): e66323.
- Martínez A. and Asencio A.D. 2010. Distribution of cyanobacteria at the Gelada Cave (Spain) by physical parameters. *Journal of Cave and Karst Studies* 72: 11–20.
- Mason-Williams M.A. 1966. Further investigations into bacterial and algal populations of caves in South Wales. *International Journal of Speleology* 2: 389-395.
- Matthes-Sears U., Gerrath J.A., Gerrath J.F. and Larson D.W. 1999. Community structure of epilithic and endolithic algae and cyanobacteria on cliffs of the Niagara Escarpment. *Journal of Vegetation Science* 10: 587-598.

- Mazina S.E. and Maximov V.N. 2011. Photosynthetic Organism Communities of the Akhshtyrskaya Excursion Cave. Moscow University Biological Sciences Bulletin 66 (1): 37–41.
- McKew B.A., Taylor J.D., McGenity T.J. and Underwood G.J.C. 2011. Resistance and resilience of benthic biofilm communities from a temperate saltmarsh to desiccation and rewetting. *ISME Journal* 5(1): 30-41.
- McNeill J. and Turland N.J. 2011. Major changes to the Code of Nomenclature—Melbourne, July 2011. *Taxon* 60 (5): 1495–1497.
- McNeill J. Barrie F.R., Buck W.R., Demoulin V., Greuter W., Hawksworth D.L., Herendeen P.S., Knapp S., Marhold K., Prado J., Prud'homme Van Reine W.F., Smith G.F. and Wiersema J. H. 2012. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code), Adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011 (electronic ed.). International Association for Plant Taxonomy, Bratislava.
- Milanović P. 1979. Hidrogeologija karsta i metode istraživanja. HE ‘Trebišnjica’, Institut za korišćenje i zaštitu voda na kršu, Trebinje.
- Milanović S. 2012. Speleologija i speleoronjenje u hidrogeologiji karsta. Rudarsko-geološki fakultet, Beograd.
- Miller A., Dionisio A. and Macedo, F.A. 2006. Primary bioreceptivity: A comparative study of different Portuguese lithotypes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 57 (2): 136–142.
- Morse J.W. and Mackenzie F.T. 1990. Geochemistry of Sedimentary Carbonates, Volume 48, 1st Edition. Elsevier Science.
- Mrozińska-Broda T. and Czerwak-Marcinkowska J. 2004. Eukariotic (epilithic) algae found in caves in the Kraków- Częstochowa Upland. In: Partyka J. (Ed.) The diversify cation and transformation of natural and cultural environment of the Kraków-Częstochowa Upland. 1: 171–178. Ojcowski Park Narodowy, Ojców.
- Mulec J. 2005. Algae in the karst caves of Slovenia. Doctoral dissertation. University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia.
- Mulec J. 2008. Microorganisms in hypogean: examples from slovenian karst caves. *Acta Carsologica* 37 (1): 153-160.

- Mulec J. 2012. Lampenflora. In: White B.W. and Culver D.C. (Eds.) Encyclopedia of Caves, 2nd edition. Elsevier, Oxford UK. pp. 945.
- Mulec J. and Kosi G. 2008. Algae in the aerophytic habitat of Račiške ponikve cave (Slovenia). *Natura Sloveniae* 10 (1): 39-49.
- Mulec J. and Kosi G. 2009. Lampenflora algae and methods of growth control. *Journal of Cave and Karst Studies* 71: 109–115.
- Mulec J., Kosi G. and Vrhovsek D. 2007. Algae promote growth of stalagmites and stalactites in karst caves (Skocjanske jame, Slovenia). *Carbonates Evaporites* 22: 6–9.
- Mulec J., Kosi G. and Vrhovšek D. 2008. Characterization of cave aerophytic algal communities and effects of irradiance levels on production of pigments. *Joutrnal of Cave and Karst Studies* 70 (1): 3–12.
- Mulec J., Krištufek V. and Chroňáková A. 2012. Comparative microbial sampling from eutrophic caves in Slovenia and Slovakia using RIDA COUNT test kits. *International Journal of Speleology* 41 (1): 1-8.
- Nagarkar S. and Williams G.A. 1997. Comparative techniques to quantify cyanobacteria dominated epilithic biofilms on tropical rocky shores. *Marine Ecology Progress Series* 154: 281-291.
- Nagy J. P. 1964. Preliminary note on the algae of Crystal Cave, Kentucky. *International Journal of Speleology* 1: 479-490.
- Palik P. 1964. Über die Algenwelt der Höhlen in Ungarn. *International Journal of Speleology* 1: 35-43.
- Pantazidou A. and Roussomoustakaki M. 2005. Biodiversity and ecology of cyanobacteria in a variety of hypogean ecosystems (Greece). 14th International Congress of Speleology. 21-28 August 2005, Kalamos, Hellas.
- Pattanaik B., Schumann R. and Karsten U. 2007. Effects of Ultraviolet Radiation on Cyanobacteria and their Protective Mechanisms. In: Seckbach J. (Ed.) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*, Springer.
- Pentecost A. 1993. Field relationships between scytonemin density, growth and irradiance in cyanobacteria occurring in low illumination regimes. *Microbial Ecology* 26: 101–110.

- Pentecost A. and Zhaohui Z. 2001. The distribution of plants in Scoska Cave, North Yorkshire, and their relationship to light intensity. International Journal of Speleology 30 A (1/4): 27–37.
- Pentecost A. 2011. Some “Lamp Floras” from show caves in Northern England. Cave and Karst Science 37 (3): 79-92.
- Pentecost A. and Zhang Z. 2004. A note on the distribution of plants in Scoska Cave, North Yorkshire, United Kingdom, and their relationship to light intensity. Journal of Cave and Karst Science 31: 119–122.
- Pentecost A. and Whitton B.A. 2012. Subaerial Cyanobacteria. In: Whitton B.A. (Ed.) Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time. Springer Science+Business Media B.V.
- Petersen J.B. 1915. Studier over Danske aérofile alger. K Danske Vidensk Selsk Ser 7. 12: 272–379.
- Petersen J.B. 1935. Studies on the biology and taxonomy of soil algae. Dansk Botanisk Arkiv 8 (9): 1-108.
- Petrović J. 1976. Jame i pećine SR Srbije. Vojnoizdavački zavod, Beograd, 515 p.
- Philpotts A.R. 2003. Petrography of Igneous and Metamorphic Rocks. Waveland Press, Inc., Illinois, USA.
- Piano E., Bona F., Falasco E., La Morgia V., Badino G. and Isaia M. 2015. Environmental drivers of phototrophic biofilms in an Alpine show cave (SW-Italian Alps). Science of the Total Environment 536: 1007-1018.
- Pinna D. and Salvadori O. 2008. Processes of biodeterioration: general mechanisms. In: Caneva G., Nugari M.P., and Salvadori O. (Eds.) Plant Biology for Cultural Heritage, Biodeterioration and Conservation. The Getty Conservation Institute, Los Angeles, USA.
- Piontek M. and Lechów H. 2014. Aerophytic Cyanobacteria as a Factor in The Biodegradation of Technical Materials on External Building Walls. Civil And Environmental Engineering Reports13 (2): 109-119.
- Popović S., Subakov Simić G., Stupar M., Unković N., Predojević D., Jovanović J. and Ljaljević Grbić M. 2015a. Cyanobacteria, algae and microfungi present in biofilm from Božana Cave (Serbia). International Journal of Speleology 44 (2): 141-149.

- Popović S., Subakov Simić G., Stupar M., Unković N., Predojević D., Blagojević A. & Ljaljević Grbić M. 2015b. Cyanobacteria, algae and microfungi from Degurić cave, west Serbia. 6th Balkan Botanical Congress, September 14-18. 2015, University Campus Rijeka, Croatia, p. 100.
- Popović S., Subakov Simić G., Korać A., Golić I. & Komárek J. 2016a. *Nephrococcus serbicus*, a new coccoid cyanobacterial species from Božana Cave, Serbia. *Phytotaxa* 289 (2): 135–146.
- Popović S., Jovanović J., Predojević D., Trbojević I., Blagojević A. & Subakov Simić G. 2016b. Phototrophic microorganisms in biofilm samples from Vernjika Cave, Serbia. EGU General Assembly 17.-22.04.2016, Vienna, Austria, Geophysical Research Abstracts, Vol. 18, EGU2016-16064.
- Popović S., Jovanović J., Predojević D., Trbojević I., Blagojević A., Jakovljević O. & Subakov Simić, G. 2016c. Cyanobacteria and algae from biofilms: the comparison of phototrophic microorganism community from cave entrance and lampenflora - Lazareva cave, Serbia. 5th Congress of Ecologists of Macedonia, Macedonia (Ohrid) 19.10. – 22.10. 2016. p.125.
- Popović S., Subakov simić G., Stupar M., Unković N., Krnić O., Savić N. & Ljaljević Grbić M. 2017a. Cave biofilms: characterization of phototrophic cyanobacteria and algae and chemotrophic fungi from three caves in Serbia. *Journal of Cave and Karst Studies*, 79 (1), 10–23.
- Popović S., Jovanović J., Blagojević A., Trbojević I., Predojević D., Nikolić N., Vidović M. & Subakov Simić G. 2017b. Diversity of epilithic and endolithic cyanobacteria and green algae at the entrance of two caves in Serbia. 11th International Phycological Congress, Szczecin, Poland, 13–19 August 2017. *Phycologia, Congress Abstracts* 56 (4) Supplement, 150-151.
- Potts M. 1994. Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological Review* 58: 755–805.
- Potts M., Slaughter S.M., Hunneke F.U., Garst J.F. and Helm R.F. 2005. Desiccation tolerance of prokaryotes: application of principles to human cells. *Integrative and Comparative Biology* 45: 800–809.
- Pouličková A. and Hašler P. 2007. Aerophytic diatoms from caves in central Moravia (Czech Republic). *Preslia* 79: 185–204.

- Prakash B., Veeragowda B. M. and Krishnappa G. 2003. Biofilms: a survival strategy of bacteria. *Current Science* 85: 1299-1307.
- Prescott G.W., Croasdale H.T and Vinyard W.C. 1972. North American Flora, Series II, Part 6, Desmidiales, Saccodermae, Mesotaeniaceae. The New York Botanical Garden, New York.
- Predojević D. 2017. Procena ekološkog statusa reke Zasavice na osnovu algoloških parametara. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Prieto B., Silva B. and Lantes O. 2004. Biofilm quantification on stone surfaces. *Science of the Total Environment* 333: 1-7.
- Prieto B. and Silva B. 2005. Estimation of the potential bioreceptivity of granitic rocks from their intrinsic properties. *International Biodeterioration & Biodegradation* 56: 206–215.
- Protić M. 1984. Petrologija sedimentnih stena. Rudarsko-geološki fakultet, OOUR grupa za mineralogiju, kritalografiju, petrologiju i geochemiju. Beograd.
- Pulido-Bosch A., Martin-Rosales W., Lopez-Chicano M., Rodriguez- Navarro C.M., Vellejos A. 1997. Human impact in a tourist karstic cave (Aracena, Spain). *Environmental Geology* 31: 142–149.
- Rajczy M., Buczkó K. and Komáromy P. 1986. Contributions to the flora of the Hungarian caves I. Flora of the entrances of the caves Lők-völgyi-barlany and Szeleta-barlany. *Studia Botanica Hungarica* 9: 79–88.
- Ramírez-Reinat E. 2010. How Cyanobacteria Bore. Doctoral Dissertation. Arizona State University.
- Reichardt E. 1999. Zur Revision der Gattung *Gomphonema*: Die Arten um *G. affine/insigne*, *G. angustatum/micropus*, *G. acuminatum* sowie gomphonemoide Diatomeen aus dem Oberoligozän in Böhmen. In: Lange-Bertlott H. (Ed.) *Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs*. Gantner Verlag, Ruggell.
- Ress J.A. 2012. The ecology of aerial algae. Doctoral dissertation. Graduate College of Bowling Green State University, Ohio, SAD.
- Reynolds C.S. 2006. The ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Rindi F. 2007. Diversity, distribution and ecology of green algae and cyanobacteria in urban habitats. In: Seckbach J. (Ed.) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*, Springer, Dordrecht.
- Rindi F. and Guiry M.D. 2004. Composition and spatial variability of terrestrial algal assemblages occurring at the bases of urban walls in Europe. *Phycologia* 43 (3): 225-235.
- Roldán M. and Hernández-Mariné M. 2009. Exploring the secrets of the three-dimensional architecture of phototrophic biofilms in caves. *International Journal of Speleology* 38 (1): 41-53.
- Roldán M., Clavero E., Canals T., Gómez-Bolea A., Ariño X. and Hernández-Mariné M. 2004. Distribution of phototrophic biofilms in cavities (Garraf, Spain). *Nova Hedwigia* 78: 329–351.
- Rossi F. and De Philippis R. 2015. Role of Cyanobacterial Exopolysaccharides in Phototrophic Biofilms and in Complex Microbial Mats. *Life* 5 (2): 1218–1238.
- Růžička J. 1981. Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1, 2. Lieferung. E. Schweizerbart'sche Verlagbuchhanlung, Stuttgart.
- Saiz-Jimenez C. 2012. Microbiological and environmental issues in show caves. *World journal of Microbiology and Biotechnology* 28 (7): 2453-2464.
- Sant'Anna C., Branco L. and Silva S. 1991. A new species of Gloeothecce (Cyanophyceae, Microcystaceae) from São Paulo State, Brazil. *Algological Studies* 92: 1-5.
- Sallstedt T., Ivarsson M., Lundberg J., Sjöberg R., Ramón J. and Romani V. 2014. Speleothem and biofilm formation in a granite/dolerite cave, Northern Sweden. *International Journal of Speleology* 43 (3): 305-313.
- Sanders W.B. 2001. Lichens: The Interface between Mycology and Plant Morphology: Whereas most other fungi live as an absorptive mycelium inside their food substrate, the lichen fungi construct a plant-like body within which photosynthetic algal symbionts are cultivated. *BioScience* 51 (12): 1025–1035.
- Selvi B. and Altuner Z. 2007. Algae of Balıca Cave (Tokat-Turkey). *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1 (3): 99-103.
- Şerbănescu V. and Decu M. 1962. To the knowledge of cavernicolous algae of Oltenia. *Revue de Biologie* 7: 201-214.

- Scheerer S., Ortega-Morales O. and Gaylarde C. 2009. Microbial deterioration in stone monuments-an updated overview. In: Laskin A., Gadd G., and Sariaslani S. (Eds.) *Advances in Applied Microbiology*, Volume 66. Academic Press, San Diego, p. 97–130.
- Skuja H. 1970. Alghe cavernicolene nelle zone illuminate delle grotte di Castellana (Murge di Bari). *La Grotte d' Italia* 4: 193-202.
- Smith T. and Olson R. 2007. A taxonomic survey of Lamp Flora (Algae and Cyanobacteria) in electrically lit passages within Mammoth Cave National Park, Kentucky. *International Journal of Speleology* 36:105–114.
- St. Clair L.L. and Rushforth S.R. 1976. The diatoms of Timpanogos cave National Monument, Utah. *American Journal of Botany* 63 (1): 49-59.
- St. Clair L.L., Rushforth S.R. and Allen J.V. 1981. Diatoms of Oregon Caves National Monument, Oregon. *Great Basin Naturalist* 41 (3): 317-332.
- Stal L.J. 2012. Cyanobacterial Mats and Stromatolites. In: Whitton B.A. (Ed.) *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*. Springer Science+Business Media B.V.
- Starmach K. 1972. Chlorophyta III. Zielenice nitkowate: Ulotrichales, Ulvales, Prasiolales, Sphaeropleales, Cladophorales, Trentepohliales, Siphonales, Dichotomosiphonales: Warszawa and Krakow, Panstwowe Wydawnictwo Naukowe, series Flora slodkowodna Polski 10, 750 pp.
- Stowe W.C. Brodie-Kommit J. and Stowe-Evans E. 2011. Characterization of Complementary Chromatic Adaptation in *Gloeotrichia* UTEX 583 and Identification of a Transposon-like Insertion in the cpeBA Operon. *Plant and Cell Physiology* 52 (3): 553-562.
- SRPS EN 13946:2015. Kvalitet vode - Uputstvo za rutinsko uzimanje uzoraka i pripremu preparata bentosnih silikatnih algi iz reka i jezera.
- Strunecký O., Komárek J. and Šmara J. 2014. Kamptonema (Microcoleaceae, Cyanobacteria), a new genus, derived from the polyphyletic *Phormidium*. *Preslia* 86: 193–207.
- Sun J. and Liu D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research* 25 (11): 1331-1346.

- Taylor J.C., De Le Rey P.A. and Van Rensburg L. 2005. Recommendations for the collection, preparation and enumeration of diatoms from riverine habitats for water quality monitoring in South Africa. African Journal of Aquatic Science 30 (1): 65-75.
- Taylor J.C, Harding W.R. and Archibald C.G.M. 2007. An illustrated guide to some common diatom species from South Africa. Report to the Water Research Commission TT 282/07. Pretoria, South Africa.
- Tobin B.W., Hutchins B.T. and Schwartz B.F. 2013. Spatial and temporal changes in invertebrate assemblage structure from the entrance to deep-cave zone of a temperate marble cave. International Journal of Speleology 42 (3): 203-214.
- Ter Braak C.J.F. and Šmilauer, P. 2012. Canoco reference manual and user's guide: software for ordination, version 5.0. Microcomputer Power, Ithaca, USA, 496 pp.
- Tian Y. and He F. 1996. A preliminary study on the microcommunity ecology of karst Cyanophyta in mat from Fendong Cave, Panxian, Guizhou. Carsalogica Sinica 15:233–238
- Tian Y.P., Chen J.Q., Zhang J., Li S.F. and Bao H.S. 2001. New taxa of Chroococcaceae from Yunnan, China. Acta Phytotaxonomica Sinica 39 (3): 280-282.
- Tomaselli L., Tiano P. and Lamenti G. 2000. Occurrence and fluctuation in photosynthetic biocoenoses dwelling on stone monuments. In: O. Ciferri, P. Tiano and G. Mastromei (Eds.) Of Microbes and Art – The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage, pp. 63–76. Kluwer, New York.
- Tofilovska S. 2014. Аерофитни дијатомеи на отвори на пештери во Македонија. Diplomski rad. Универзитет “Св. Кирил и Методиј” Природно-Математички Факултет – Скопје, Институт за Биологија.
- Tofilovska S., Wetzel C.E., Ector L. and Levkov Z. 2014. Observation on *Achnanthes* Bory sensu stricto (Bacillariophyceae) from subaerial habitats in Macedonia and comparison with the type material of *A. coarctata* (Brébisson ex W. Smith) Grunow, *A. coarctata* var. *sinaensis* Hustedt and *A. intermedia* Kützing. Fottea 14 (1): 15–42.

- Underwood A.J. 1984a. The vertical distribution and seasonal abundance of intertidal microalgae on a rocky shore in New South Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 78: 199-220.
- Underwood A.J. 1984b. Microalgal food and the growth of the intertidal Gastropods *Nerjta atramentosa* Reeve and *Bembicium nanum* (Lamarck) at four heights on a shore. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 79: 277-291.
- Urzì C, De Leo F, Bruno L and Albertano P. 2010. Microbial diversity in Paleolithic caves: a study case on the phototrophic biofilms of the Cave of Bats (Zuheros, Spain). *Microbial Ecology* 60:116–129.
- Utermöhl H. 1958. Zur vervolkmmung der quantitativen phytoplankton methodik. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1–38.
- Van de Vijver B., Beyens L. and Lange-Bertalot H. 2004. The genus *Stauroneis* in Arctic and Antarctic Regions. In: Lange-Bertalot H. and Kocielek P. (Eds.) *Bibliotheca Diatomologica*, 50. J. Cramer, Berlin-Stuttgart.
- Van de Vijver B. and Mataloni G. 2008. New and interesting species in the genus *Luticola* D.G. Mann (Bacillariophyta) from Deception Island (South Shetland Islands). *Phycologia* 47 (5): 451-467.
- Van Landingham S.L. 1964. Diatoms from Mammoth Cave, Kentucky. *International Journal of Speleology* 1: 517-539.
- Verseghy K. 1964. Die Pflanzenwelt der Höhlen bei Lillafüred. *International Journal of Speleology* 1: 553-560.
- Vinogradova O.N., Kovalenko O.V., Wasser S.P., Nevo E. and Weinstein-Evron M. 1998. Species diversity gradient to darkness stress in blue-green algae/cyanobacteria: a microscale test in a prehistoric cave, Mount Carmel, Israel. *Israel Journal of Science* 46: 229–238.
- Vinogradova O.N., Nevo E., Wasser S.P. 2009. Algae of the Sefunum Cave (Israel): species diversity affected by light, humidity and rock stresses. *International Journal on Algae* 11: 99–116.
- Zammit G., Billi D. and Albertano P. 2012. The subaerophytic cyanobacterium *Oculatella subterranea* (Oscillatoriales, Cyanophyceae) gen. et sp. nov: a

- cytomorphological and molecular description. European Journal of Phycology 47 (4): 341-354.
- Zimmerman J., Gonzales J.M., Ludwig W. and Saiz-Jimenez C. 2005. Detection and phylogenetic relationships of highly diverse uncultured acidobacterial communities in Altamira cave using 23S rRNA sequence. Geomicrobiology Journal 22: 379–388.
- Wada N., Sakamoto T. and Matsugo S. 2013. Multiple Roles of Photosynthetic and Sunscreen Pigments in Cyanobacteria Focusing on the Oxidative Stress. Metabolites. 3 (2): 463-483.
- Watanabe M. and Komárek J. 1988. Blue-green algae from Kathmandu. In: Watanabe M. and Malla S.B. (Eds.) Cryptogams of the Himalayas, Vol.1. Tsukuba, The Kathmandu Valley, pp. 1-20.
- Welton R.G., Ribas Silva M., Gaylarde Ch., Herrera L.K., Anleo X., De Belie N. and Modry S. 2005. Techniques applied to the study of microbial impact on building materials. Materials and structures 38 (10): 883-893.
- Whitton B.A. 2012. Ecology of Cyanobacteria II, their diversity in space and time. Springer, London, 760 pp.
- Whitton B.A. and Potts 2012. Introduction to the Cyanobacteria. In: Whitton B.A. (Ed.) Ecology of Cyanobacteria II, Their Diversity in Space and Time. Springer
- Wierzchos J., DiRuggiero J., Vítek P., Artieda O., Souza-Egipsy V., Škaloud P., Tisza M., Davila A.F., Vílchez C., Garbayo I. and Ascaso C. 2015. Adaptation strategies of endolithic chlorophototrophs to survive the hyperarid and extreme solar radiation environment of the Atacama Desert. Frontiers in Microbiology 6: 934.
- Williams G.A. 1993. The relationship between herbivorous molluscs and algae on moderately exposed Hong Kong shores. In: Morton B.S. (Ed.) Proceedings of the First International Conference on the Marine Biology of Hong Kong and the South China Sea. Hong Kong University Press, Hong Kong. 459-469.

Citirani sajtovi:

- <http://anta019.blogspot.rs/2015/12/bogovinska-pecina.html> 04.07.2017.

- <http://discoverssoutheastserbia.com/lokacija/priroda/pecine/lazareva-pecina/> 29.04.2018.
- https://en.wikipedia.org/wiki/Extracellular_polymeric_substance#/media/File:Biофильм_Formation.jpg 29.03.2018.
- <https://get.google.com/albumarchive/107614549884609524708/album/AF1QipOqG2JC3IPesrcmVgJLKjOsGp20dFoKVjD3ZyI> 07.07.2017.
- <http://mionica.co.rs/ribnicka-pecina-selo-pastric> 29.04.2018.
- <http://safari.rs/aktivnosti/speleologija/prekonoga/> 27.06.2017.
- http://www.asak.org.rs/caves/cerje/cerje_y.html 30.06.2017.
- https://www.google.rs/search?q=cave+formation&source=lnms&tbo=isch&saf=X&ved=0ahUKEwjht5n2xs7aAhVGmbQKHQVXDaIQ_AUICigB&biw=1517&bih=735#imgdii=M8hqEoPe968sqM:&imgrc=u2adBd5mqdNQ1M 29.03.2018.
- <https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Cerjanska-pecina-neistrazen-raj-pod-zemljom.sr.html> 30.06.2017.
- <https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Pecina-Samar-od-svetski-poznate-dozaboravljen.sr.html> 27.06.2017.
- <https://www.juznevesti.com/Drushtvo/Sta-cuva-Prekonoska-pecina-koju-je-pre-133-godine-otvorio-Obrenovic.sr.html> 27.06.2017.
- https://www.panoramio.com/user/3463259?photo_page=4 03.07.2017.
- <http://www.panacomp.net/hadzi-prodanova-pecina/> 03.07.2017.
- <http://www.rasen.rs/2016/10/pecine-srbije-vernjikica/#.WuVr4IhubIU> 29.04.2018.
- <http://www.srbijajenajlepsa.rs/item/index/3547.html> 05.07.2017.
- <https://www.trecator.ro/europa-serbia/pestea-vernjikica/> 03.07.2017.

8. PRILOG

Mikrografije odabranih taksona aerofitskih cijanobakterija i algi.

Tabla I

Slika 1. *Aphanocapsa muscicola*

Slika 2 – 3. *Aphanothece castagnei*

Slika 4 – 5. *Aphanothece pallida*

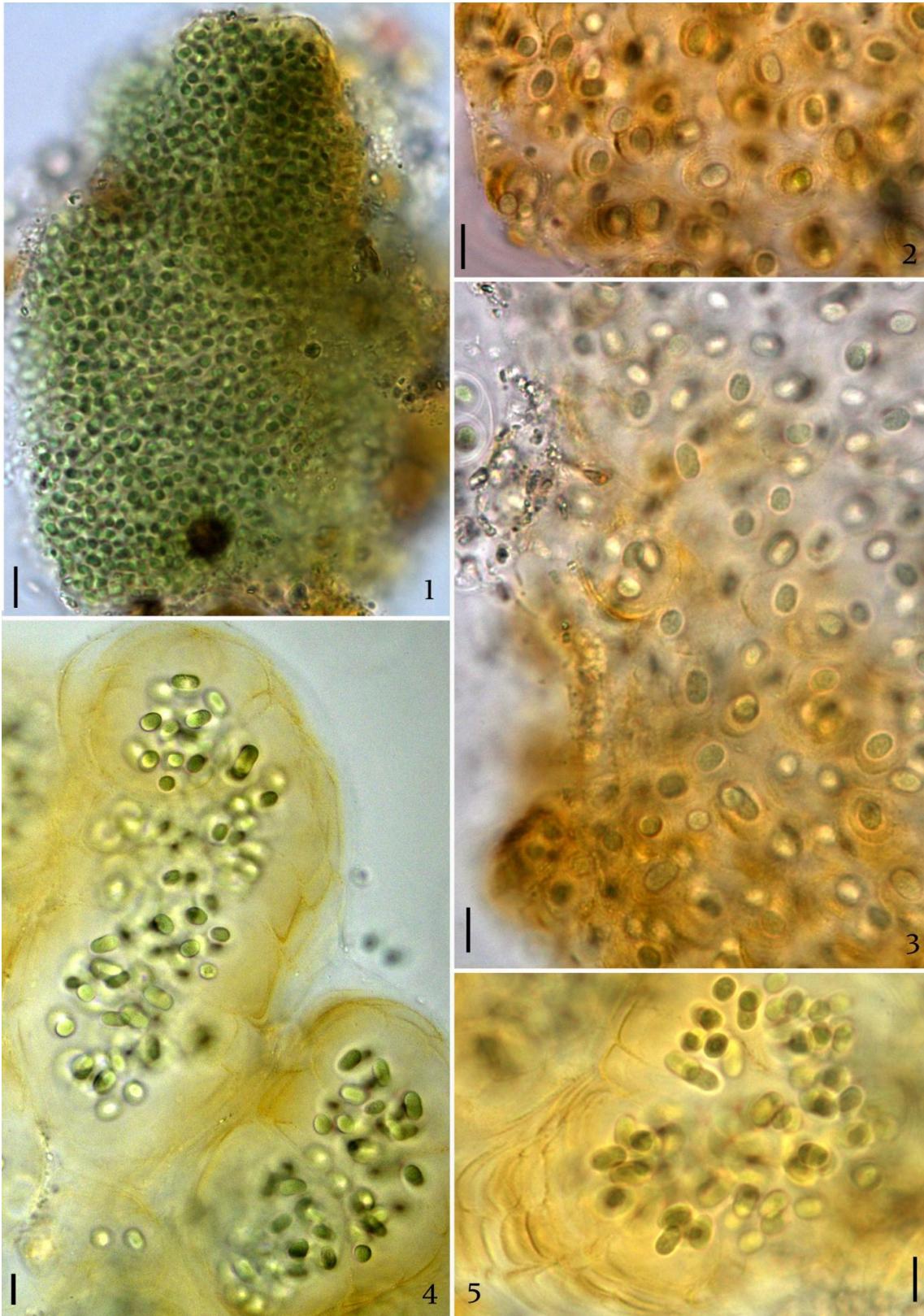


Tabla II

Slika 6 – 8. *Aserocapsa* cf. *purpurea*

Slika 9 – 10. *Asterocapsa* sp. 2

Slika 11. *Asterocapsa* sp. 1

Slika 12. *Asterocapsa* sp. 4

Slika 13. *Chroococcidiopsis kashayi*

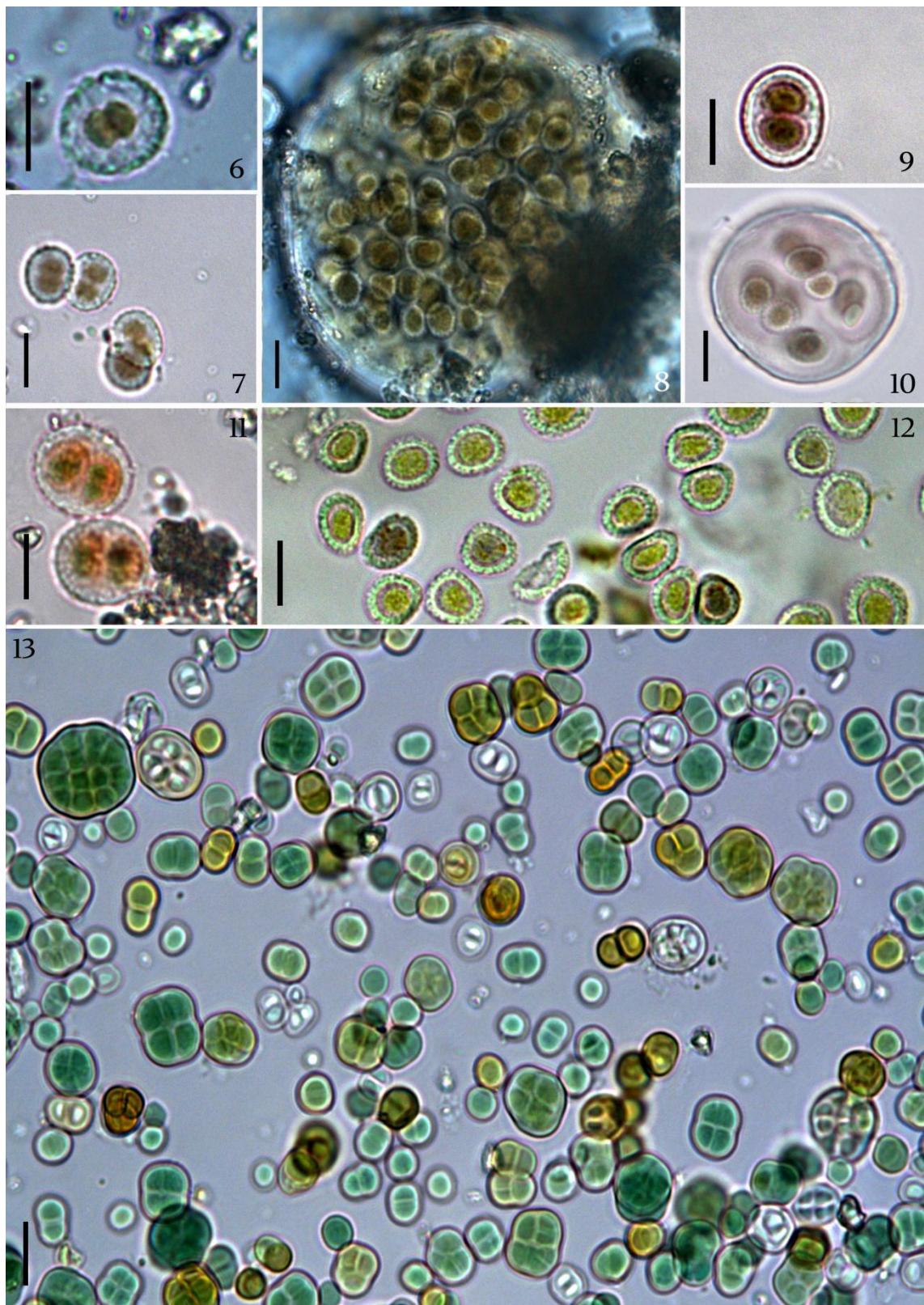


Tabla III

Slika 14 – 15. *Chroococcus ercegovicu**ii*

Slika 16. *Gloeocapsopsis cf. pleurocapsoides*

Slika 17 – 18. *Chroococcus spelaeus*

Slika 19. *Chroococcus helveticus*

Slika 20. *Cyanothece aeruginosa*

Slika 21. *Eucapsis* sp.

Slika 22. *Gloeobacter violaceus*

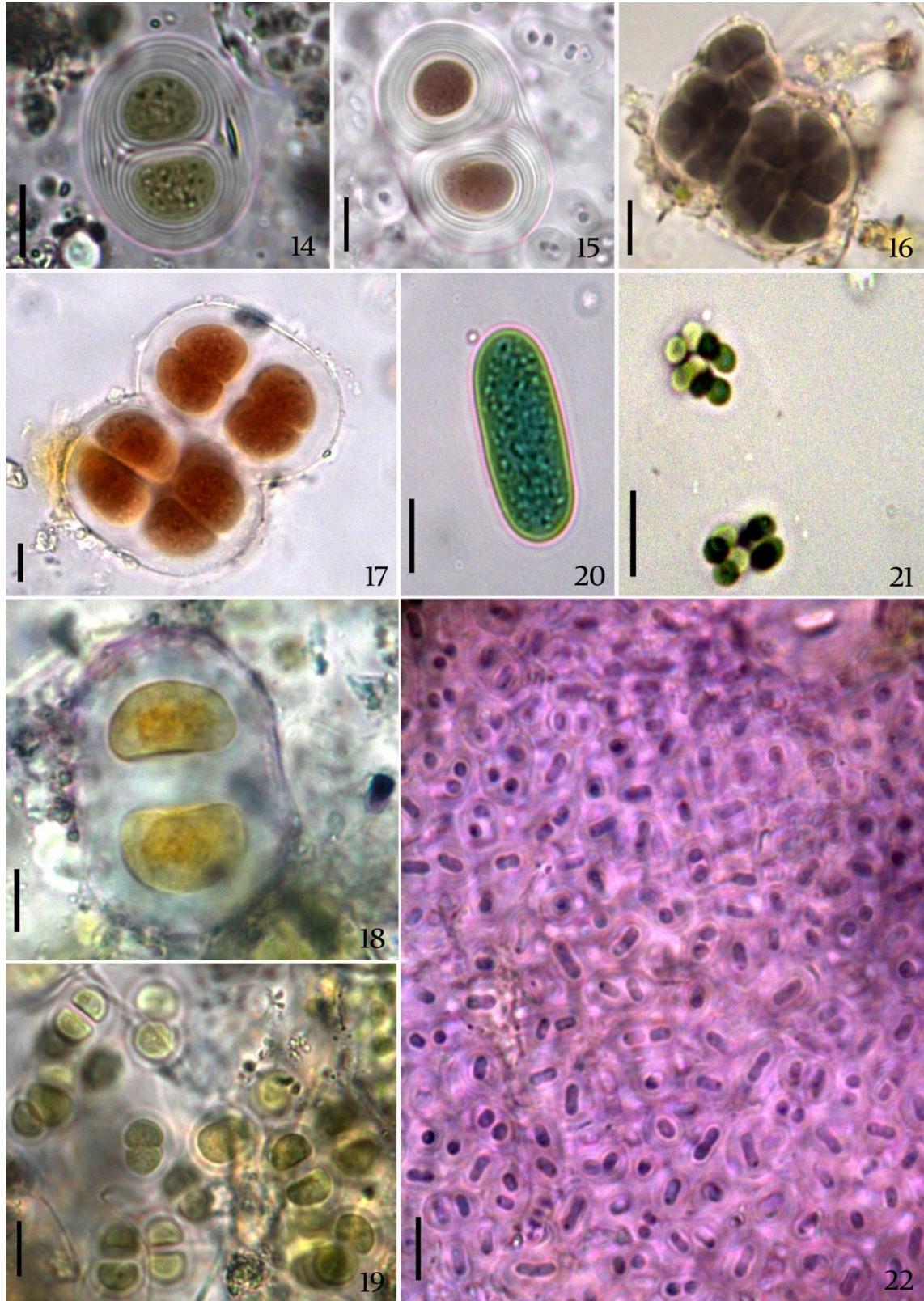


Tabla IV

Slika 23 – 24. *Gloeocapsa alpina*

Slika 25. *Gloeocapsa kuetzingiana*

Slika 26. *Gloeocapsa biformis*

Slika 27 – 28. *Gloeocapsa sanguinea*

Slika 29 – 30. *Gloeocapsa novacekii*

Slika 31. *Gloeocapsa compacta*

Slika 32. *Gloeocapsa atrata*

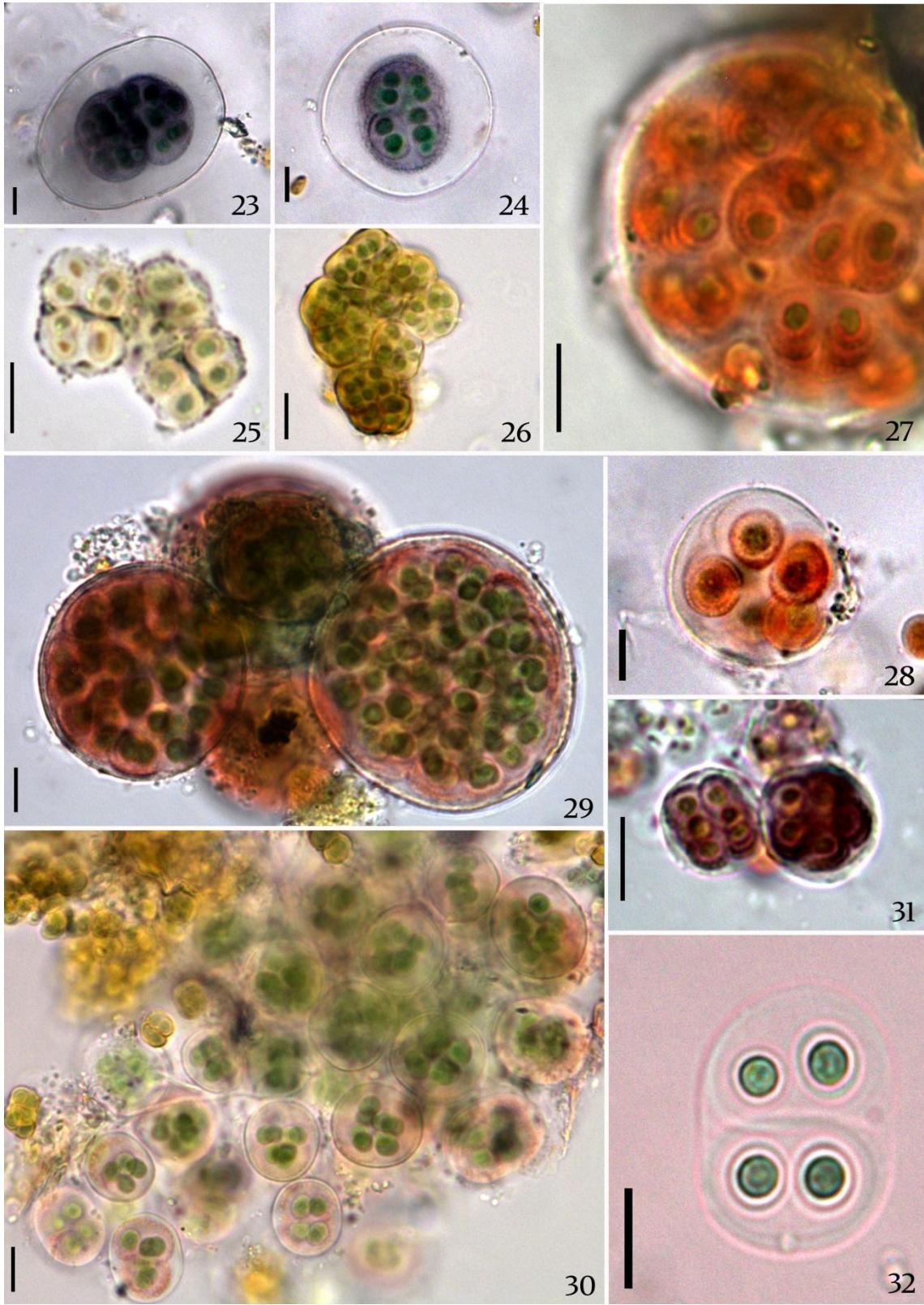


Tabla V

Slika 33. *Gloeothece palea*

Slika 34 – 35. *Gloeothece rupestris*

Slika 36. *Gloeothece membranacea*

Slika 37. *Pseudocapsa dubia*

Slika 38. *Gloeothece* sp.

Slika 39. *Gloeocapsa nigrescens*

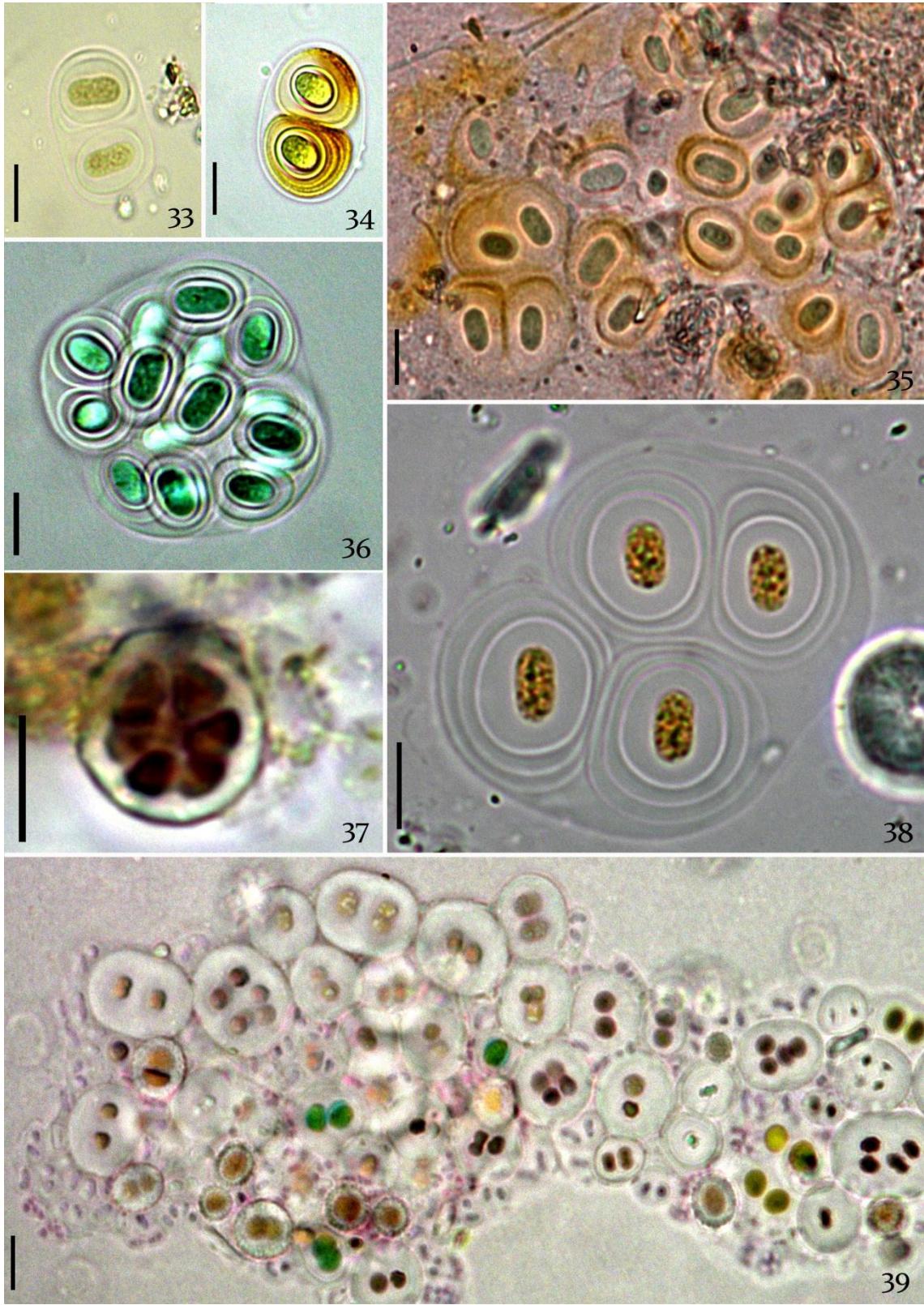


Tabla VI

Slika 40. *Leptolyngbya foveolarum*

Slika 41 – 42. *Leptolyngbya* sp. 1

Slika 43. *Microcoleus vaginatus*

Slika 44. *Wolskyella* cf. *floridana*

Slika 45. *Oscillatoria sancta*

Slika 46. *Trihalna Cyanobacteria* 2

Slika 47. *Leptolyngbya valderiana*

Slika 48. *Phormidium* sp. 1



Tabla VII

Slika 49 – 50. *Calothrix fusca* f. *durabilis*

Slika 51. *Nostoc punctiforme*

Slika 52. *Nostoc commune*

Slika 53. *Hassalia byssoides*

Slika 54. *Scytonema mirabile*

Slika 55. *Scytonema varium*

Slika 56. *Geitleria calcarea*

Slika 57. *Toxopsis calypsus*

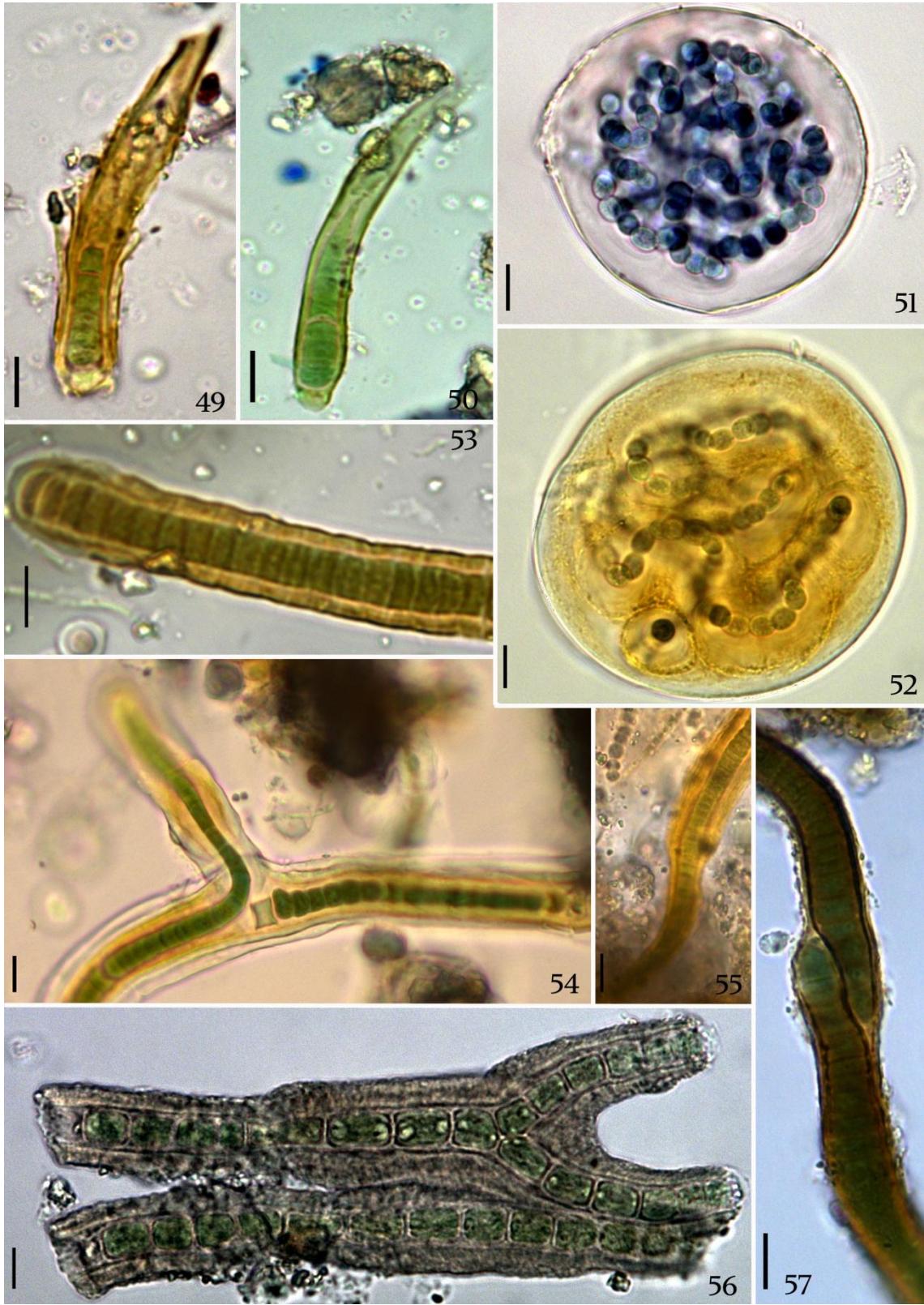


Tabla VIII

Slika 58. *Pediastrum simplex* var. *echinulatum*

Slika 59. *Haematococcus pluvialis*

Slika 60. *Chlorella* sp.

Slika 61. *Trentepohlia aurea*

Slika 62. *Trochiscia granulata*

Slika 63. *Coccozymxa* cf. *litoralis*

Slika 64. *Klebsormidium flaccidum*

Slika 65. *Desmococcus olivaceus*

Slika 66. *Cosmarium holmiense*

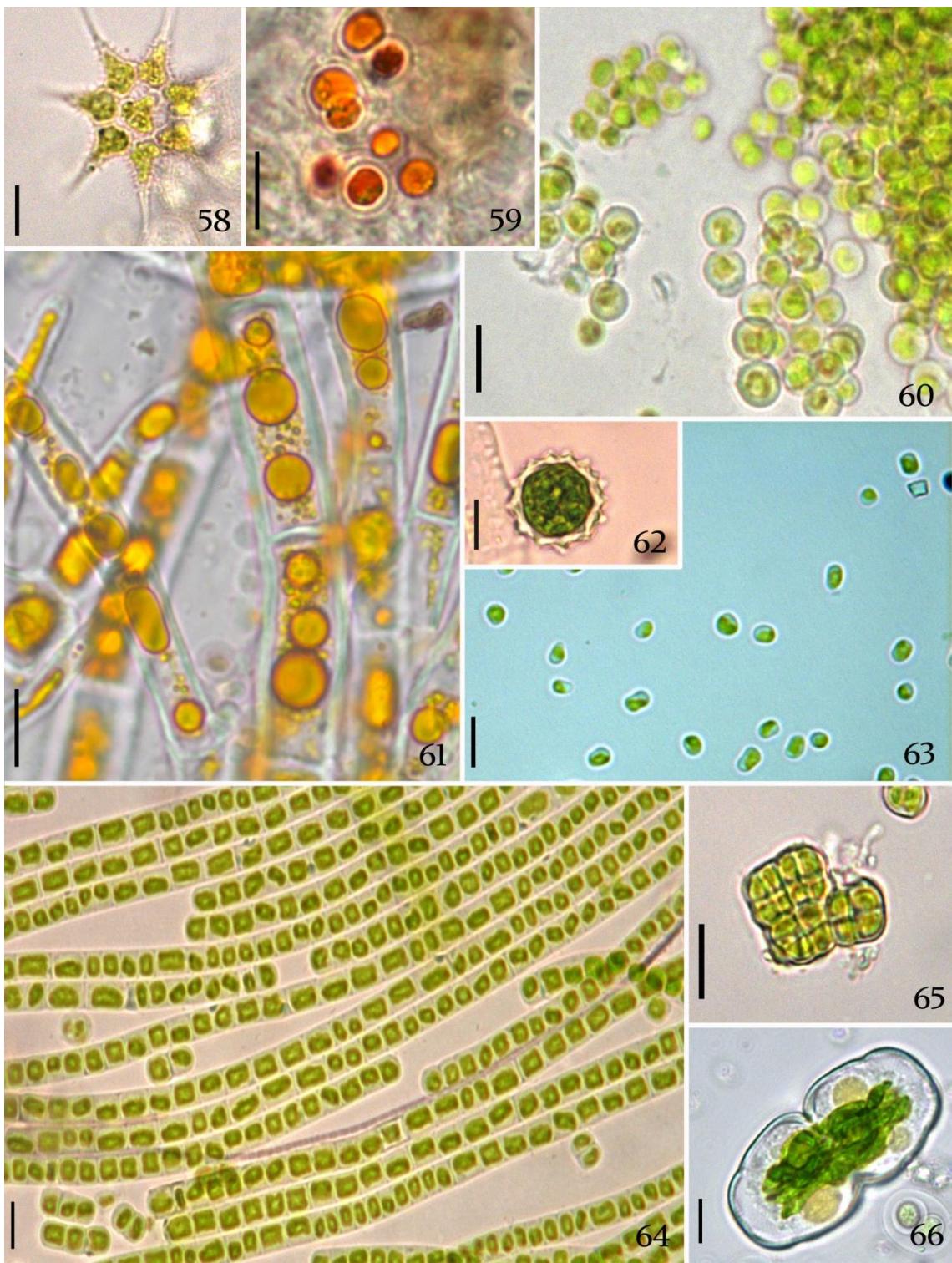


Tabla IX

Slika 67 – 68. *Achnanthes coarctata*

Slika 69 – 70. *Achnanthes pseudocoarctata*

Slika 71. *Cymbella compacta*

Slika 72. *Cymbopleura rupicola* var. *minor*

Slika 73. *Nitzschia palea*

Slika 74. *Nitzschia amphibia*

Slika 75. *Nitzschia dissipata*

Slika 76. *Navicula lundi*

Slika 77. *Orthoseira roseana*

Slika 78. *Cocconeis placentula* var. *euglypta*

Slika 79. *Luticola niveloides*

Slika 80. *Luticola quineuenodis*

Slika 81. *Luticola acidoclinata*

Slika 82. *Luticola ventricosa*

Slika 83. *Luticola nivalis*

Slika 84. *Punnularia borealis*

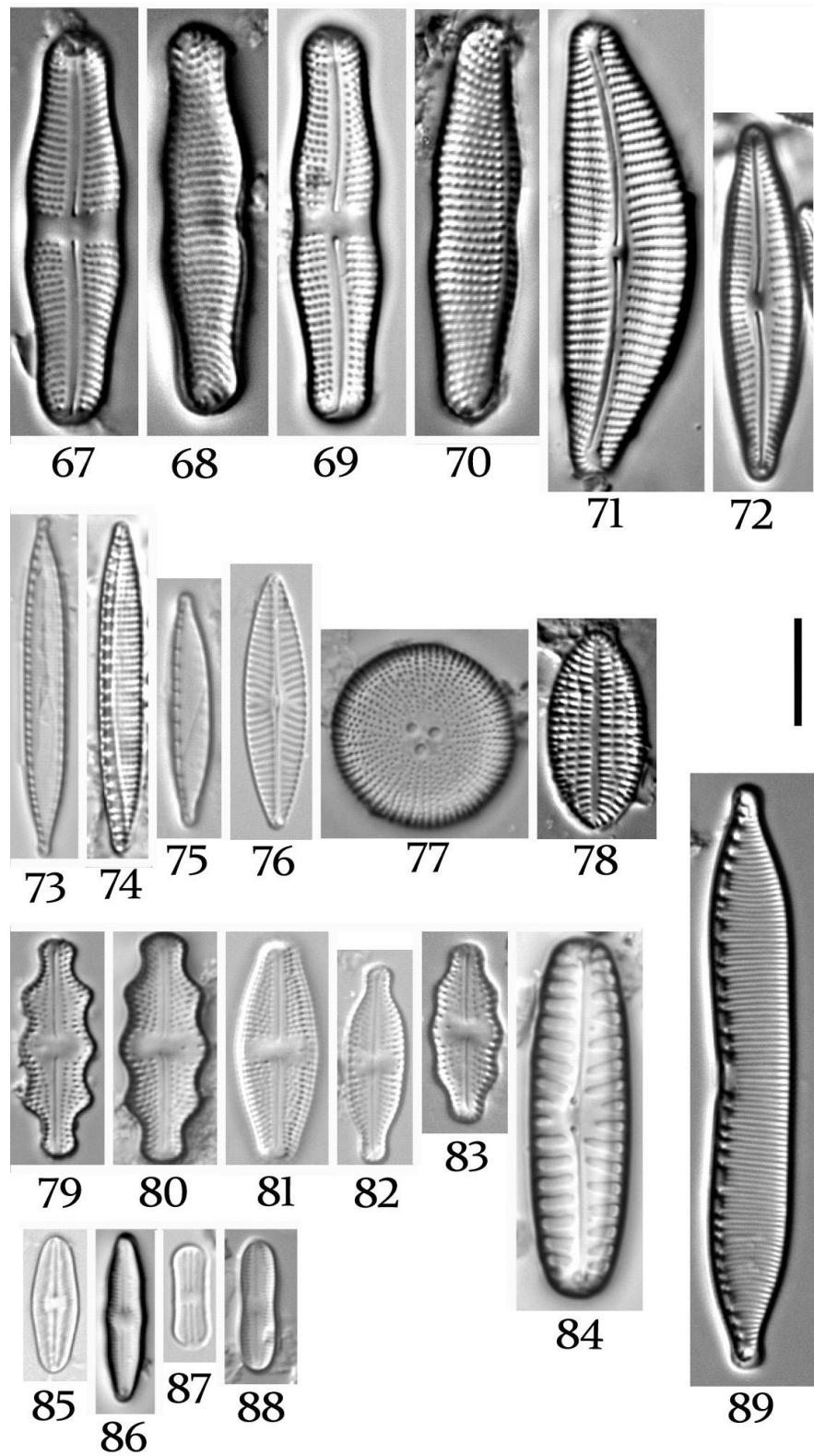
Slika 85. *Humidophila perpusilla*

Slika 86. *Humidophila brekkaensoides*

Slika 87. *Humidophila contenta*

Slika 88. *Humidophila aerophila*

SLika 89. *Hantzschia amphioxys*



Skala 10µm

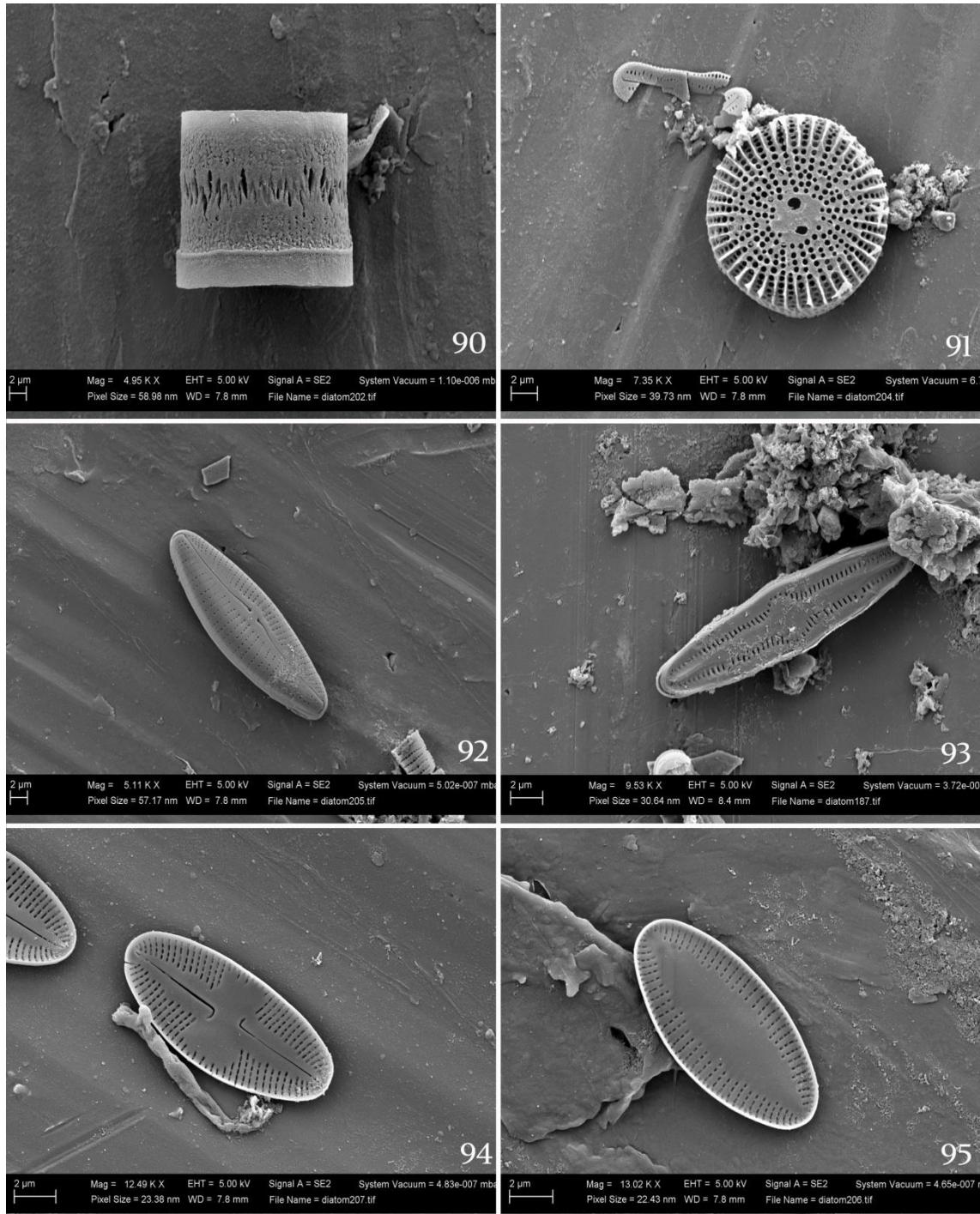
Tabla X

Slika 90 – 91. *Orthoseira roseana*

Slika 92. *Cymbopleura rupicola* var. *minor*

Slika 93. *Humidophila brekkaensoides*

Slika 94 – 95. *Psammothidium marginulatum*



BIOGRAFIJA

Slađana (Stevo) Popović, rođena je 11. oktobra 1984. godine u Užicu. Osnovnu školu „Jezdimir Tripković“ završila je u Latvici, gimnaziju (Gimnazija Ivanjica) u Arilju, a osnovne akademse studije na Biološkom fakultetu Univerzieta u Beogradu sa prosečnom ocenom 8,70 i ocenom 10 na diplomskom ispitu.

Školske 2012/13. godine upisala je doktorske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu na Modulu Algologija. Od 2014. godine radi u Centru za Ekologiju i Tehnoekonomiku na Institutu za Hemiju, Tehnologiju i Metalurgiju, gde je zaposlena na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije OI 176018 „Geološka i ekotoksikološka istraživanja u identifikaciji geopatogenih zona toksičnih elemenata u akumulacijama vode za piće – istraživanje metoda i postupaka smanjivanja uticaja biogeohemijskih anomalija“.

Slađana Popović je tokom 2015. godine boravila u Češkoj i uspešno završila statistički kurs multivariacione analize (Multivariate Analysis of Ecological Data), a tokom 2017. godine i kurs identifikacije cijanobakterija (Determination Course of Freshwater and Terrestrial Cyanobacteria). 2017 godine dobija nagradu Zadužbine Đoke Vlajkovića za jedan od najboljih naučnih radova mladih naučnih radnika Univerziteta u Beogradu, u kome je prezentovala otkriće nove vrste aerofitske cijanobakterije *Nephrococcus serbicus*, koja je samim tim prvi put zabeležena i na teritoriji cele Evrope.

Rezultati dosadašnjih istraživanja objavljeni su u 41 bibliografskoj jedinici. Do sada je objavila 14 radova u časopisima međunarodnog značaja (M20), 18 radova u zbornicima međunarodnih naučnih skupova (M30), 4 rada u časopisima nacionalnog značaja (M50) i 5 radova u zbornicima skupova nacionalnog značaja (M60).

Član je Evropske geološke asocijacije (European Geoscience Union (EGU)).

Образац 5.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: **Слађана С. Поповић**

Број индекса: **Б3017/2012**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

**Диверзитет аерофитских цијанобактерија и алги у биофилму одабраних
пећина у Србији**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Образац 6.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: **Слађана С. Поповић**

Број индекса: **Б3017/2012**

Студијски програм: **Биологија (Алгологија)**

Наслов рада: **Диверзитет аерофитских цијанобактерија и алги у биофилму одабраних пећина у Србији**

Ментор: **др Гордана Субаков Симић, ванредни професор**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похађења у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Образац 7.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Диверзитет аерофитских цијанобактерија и алги у биофилму одабраних пећина у Србији

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

- 1. Ауторство.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
- 2. Ауторство – некомерцијално.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
- 4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
- 5. Ауторство – без прерада.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
- 6. Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцима, односно лиценцима отвореног кода.