



MIKROBIOLOGIJA POVRŠINSKIH VODA



Dragan Radnović, Petar Knežević, Jelica Simeunović

Departman za biologiju i ekologiju
Prirodno-matematički fakultet
Univerzitet u Novom Sadu

Sadržaj:

1.	MIKROBIOLOŠKI DIVERZITET U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA	1
1.1.	Veličina mikroorganizama u slatkim vodama	3
1.2.	Autotrofi i heterotrofi	5
1.2.1.	Neto proizvodnja ekosistema.....	7
1.3.	Planktonski i bentosni organizmi.....	8
1.3.1.	Dormantne i metabolički aktivne forme mikroorganizama.....	9
1.4.	K i R selekcija	10
1.4.1.	Ekosistemi	13
1.5.	Ekosistem	15
1.6.	Biofilmovi – mali ekosistemi.....	16
1.6.1.	Quorum sensing.....	18
1.6.1.	Povezivanje mikroorganizama u biofilmu.....	19
1.7.	Pelagični sistem u jezeru	21
1.7.1.	Ekološke piramide.....	25
1.8.	Homeotaza i stabilnost ekosistema	29
1.8.1.	Trofičke mreže u lotičkim i lentičkim sistemima	36
1.8.1.1.	(Bajkalsko jezero, Rusija).....	36
1.8.2.	Pelagijalne i bentosne zajednice lotičkih sistema	38
2.	UTICAJ FIZIČKO-HEMIJSKIH USLOVA SREDINE NA ZAJEDNICE MIKROORGANIZAMA U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA.....	45
2.1.	Uvod.....	45
2.2.	Fizičke osobine vode.....	46
2.2.1.	Uticaj fizičkih osobina vode na biologiju vodenih mikroorganizama.....	47
2.3.	Slatkovodne sredine.....	48
2.4.	Jezer.....	50
2.4.1.	Morfologija i hirologija jezera	50
2.4.1.1.	Morfologija jezera.....	50
2.4.1.2.	Litoral i centralni regioni.....	51
2.4.1.3.	Plitka jezera	52
2.4.1.4.	Hidrologija jezera i okolnih terestričnih sredina.....	53
2.4.1.5.	Hidrologija i trofički status	53
2.4.1.6.	Dotok, otok i protočnost jezera (retenciono vreme).....	55
2.4.2.	Uticaj klime na jezera.....	56
2.4.2.1.	Jezer umerenog klimatskog pojasa – sezonske varijacije i stratifikacija jezera.....	56
2.4.2.2.	Zimska stratifikacija	57
2.4.2.3.	Prolećno mešanje vode.....	57

2.4.2.4.	Letnja stratifikacija.....	57
2.4.2.5.	Jesenje mešanje vode	58
2.4.2.5.	JEZERA VAN UMERENOG KLIMATSKOG POJASA.....	59
2.5.	Močvare	59
2.5.1.	Uloga močvara u protoku energije i materije.....	60
2.5.2.	Tipovi močvarnih staništa.....	61
2.6.	Reke i potoci.....	62
2.6.1.	Osobnosti lotičkih sistema.....	62
2.6.2.	Uticaj vodenog toka na bentosne mikroorganizme.....	63
2.6.2.1.	Snabdevanje nutrijentima	64
2.6.2.2.	Biotički odnosi mikroorganizama u lotičkim sredinama	65
2.6.3.	Hidrologija reke.....	65
2.7.	Estuari	67
2.7.1.	Staništa i zajednice.....	69
2.7.2.	Pelagijska zona	69
2.7.3.	Sediment i muljeviti nanosi.....	69
2.7.3.1.	Varijacije u građi algalnih biofilmova.....	70
2.8.	Negativni i ekstremni uslovi u slatkovodnim sredinama.....	71
2.8.1.	Kiseonik	71
2.8.2.	Dostupnost nutrijenata.....	72
2.8.3.	Svetlost	73
2.8.4.	Temperatura	73
2.8.5.	pH	75
2.8.6.	Dostupnost vode	77
2.8.7.	Hidrostatski pritisak.....	79
2.8.8.	Organsko i neorgansko zagađenje	80
2.9.	Potencijalno ekstremna mikrosredina: granična površina vazduh-voda.....	80
2.9.1.	Hemijski sastav površinskog mikrosloja.....	81
2.9.2.	Fizički procesi i transformacija površinskog biofilma	82
2.9.3.	Mikrobiološka zajednica na graničnoj površini vazduh voda	83
2.9.3.1.	Fitoneuston	84
2.9.3.2.	Zooneuston.....	84
2.10.	Mikrobiološke zajednice snega i leda.....	84
	Literatura.....	85
3.	KRUŽENJE MATERIJU U VODENOJ SREDINI	87
3.1.	Kruženje ugljenika	87
3.2.	Kruženje azota	90
3.2.1.	Azotofiksacija	90
3.2.2.	Amonifikacija.....	91
3.2.3.	Nitrifikacija	92
3.2.4.	Denitrifikacija.....	92

3.3.	Kruženje fosfora.....	93
3.4.	Kruženje sumpora.....	95
3.5.	Kruženje silicijuma.....	96
3.6.	Ciklusi mikroelemenata.....	96
3.6.1.	Kruženje gvožđa.....	97
3.6.2.	Kruženje mangana.....	98
	Literatura:.....	99
4.	BIODIVERZITET I AKTIVNOST ALGI U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA.....	101
4.1.	Glavne grupe slatkovodnih algi.....	101
4.1.2.	Biohemijske i citološke karakteristike slatkovodnih algi.....	105
4.1.2.1.	Pigmenti algi.....	105
4.1.2.2.	Rezervne materije algi.....	107
4.1.2.3.	Sastav ćelijskog zida.....	108
4.1.2.4.	Citološke karakteristike.....	108
4.1.3.	Kratak pregled reprezentativnih slatkovodnih grupa algi.....	109
4.1.3.1.	Modrozeleno alge (Cyanophyta, Cyanobacteria).....	109
4.1.3.2.	Zelene alge (Chlorophyta).....	110
4.1.3.3.	Euglenoidne alge (Euglenophyta).....	110
4.1.3.4.	Žuto-zelene alge (Xanthophyta).....	111
4.1.3.5.	Vatrene alge ili Dinoflagelate (Pyrrophyta, Dinophyta).....	111
4.1.3.6.	Kriptomonade (Cryptophyta).....	111
4.1.3.7.	Zlatne alge (Chrysophyta).....	111
4.1.3.8.	Dijatomeje ili silikatne alge (Bacillariophyta).....	112
4.1.3.9.	Crvene alge (Rhodophyta).....	112
4.1.3.10.	Mrke alge (Phaeophyta).....	113
4.1.4.	Taksonomija algi.....	113
4.2.	Aktivnosti algi unutar slatkovodne životne sredine.....	114
4.2.1.	Planktonske i bentosne alge.....	115
4.2.2.	Veličina i oblik fitoplanktona.....	118
4.2.2.1.	Broj ćelija i biovolumen.....	118
4.2.2.2.	Varijacije u veličini i obliku unutar populacije fitoplanktona.....	118
4.2.3.	Privremene aktivnosti slatkovodnih algi.....	121
4.2.3.1.	Kratkoročni promene.....	122
4.2.3.2.	Srednjoročne promene: sukcesija algi.....	123
4.2.3.3.	Dugoročne promene: varijacije tokom niza godina.....	124
4.2.4.	Distribucija fitoplanktona unutar vodenog stuba.....	125

4.2.4.1.	Vertikalno pozicioniranje u vodenom stubu	126
4.2.4.2.	Dugotrajne stratifikovane populacije algi	126
4.2.4.3.	Privremeno pozicioniranje algi	127
4.3.	Slatkovodne alge i status hranljivih materija životne sredine.....	128
4.3.1.	Eutrofizacija i promena fitoplanktonske zajednice	128
4.3.2.	Nutritivni status i bentosne alge reka	129
4.3.2.	Heterotrofna ishrana slatkovodnih algi.....	130
	Literatura:.....	131
5.	BAKTERIJE KAO GLAVNI HETEROTROFNI MIKROORGANIZMI U SLATKOVODNOM EKOSISTEMU	133
5.1.	Genetičke interakcije	135
5.2.	Metabolički diverzitet	137
5.2.1.	Aerobna razgradnja	140
5.2.2.	Anaerobna razgradnja	142
5.2.3.	Prilagođavanje oligotrofnoj sredini	144
5.2.3.1.	Fotosintetske bakterije	147
5.2.4.	Ekologija.....	150
5.3.	Bakterijske populacije i produktivnost	151
5.3.1.	Produktivnost bakterija	153
5.3.2.	Regulacija bakterijskih populacija i biomase	154
5.3.3.	Primarna i sekundarna produkcija	157
5.3.4.	Bakterijska produktivnost i lanci ishrane	158
5.4.	Bakterijski biofilmovi	159
5.5.	Interakcija bakterija sa fitoplanktonom.....	162
5.5.1.	Antagonističke interakcije bakterija i algi.....	164
5.5.1.1.	Antagonizam	165
5.5.1.2.	Parazitizam	166
5.5.1.3.	Predacija.....	167
5.5.2.	Epifitna asocijacija fitoplanktona i bakterija	167
6.	VIRUSI U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA	175
6.1.	Ciklus umnožavanja virusa: slobodni i intracelularni virusni stadijum.....	176
6.2.	Detekcija virusa	177
6.3.	Regulacija virusne abundance	182
6.4.	Uloga virusa u lancima ishrane	184
6.4.1.	Metabolički efekti virusa: smanjenje primarne produktivnosti algi.....	184
6.4.2.	Bakteriofagi u ekosistemima	188
7.	AKVATIČNA BIOTA SA MICELIJALNOM FORMOM RASTA.....	191
7.1.	Aktinomicete – micelijalni prokarioti	191
7.1.1.	Stanište	192
7.1.2.	Ishrana	192
7.1.2.1.	Kompeticija sa ostalim mikroorganizmima.....	192

7.2. Taksonomski i trofički diverzitet gljiva i gljivama sličnih organizama.....	193
7.3. Stajaće i tekuće vode kao staništa za zajednice gljiva	195
7.4. Saprotnofna aktivnost gljiva	197
7.4.1. Kolonizacija, rast i sukcesija gljiva.....	197
7.4.2. Razgradnja lišća	198
7.4.2.1. Razgradnja listova u terestričnim i vodenim sredinama.....	198
7.4.2.2. Vremenske faze u procesu raspadanja lišća	199
7.4.3. Saprotnofne gljive-hitride I deuteromicete.....	203
7.4.3.1. Saprotnofne hitridne gljive.....	203
7.4.3.2. Saprotnofne deuteromicete- hifomicete (Deuteromycota: Hyphomycetes)	204
7.4.4. Gljive i procesi razgradnje.....	205
7.4.5. Gljive u lotičkim ekosistemima: glavni tok i vodene hifomicete.....	205
7.4.5.1. Vodene hifomicete: biomasa gljiva, produkcija i sporulacija	206
7.4.5.2. Doprinos gljiva u razgradnji biljnog otpada u potocima i rečicama.....	207
7.4.5.3. Ključni faktori koji utiču na aktivnost gljiva i dekompoziciju biljnog materijala u potocima i rečicama.....	208
7.4.6. Gljive u lentičkim ekosistemima: slatkovodne močvare i diverzitet gljiva.....	209
7.4.7. Ključni faktori koji utiču na aktivnost gljiva i dekompoziciju biljnog materijala u močvarama.....	211
7.4.8. Perspektive budućih istraživanja slatkovodnih saprotnofnih gljiva.....	212
7.5. Parazitske aktivnosti vodenih gljiva	213
7.5.1. Parazitske i predatorske hifomicete: gljive koje napadaju male životinje	214
7.5.1.1. Endoparaziti	214
7.5.1.2. Predatorske gljive.....	214
7.5.2. Parazitske hitride: visoko specijalizovani paraziti slatkovodnih organizama.....	215
7.5.2.1. Coelomomyces - važan parazit slatkovodnih beskičmenjaka.....	215
7.5.2.2. Rhyzophydium -glavni parazit fitoplanktona	216
7.5.3. Gljivične epidemije u kontroli populacije fitoplanktona	217
7.5.3.1. Ekološki značaj	217
7.5.3.2. Neto efekat zaraženih i nezaraženih ćelija domaćina.....	218

7.5.3.3.	Infekcija unutar mešovite populacije fitoplanktona	218
7.5.3.4.	Infekcija unutar populacije pojedinačne vrste	219
7.5.4.	Faktori koji utiču na razvoj gljivične infekcije.....	220
7.5.4.1.	Gustina populacije domaćina.....	220
7.5.4.2.	Relativne brzine rasta domaćina/ parazita.....	221
7.5.4.3.	Reproduktivni parametri gljive	222
7.5.4.4.	Ekološki uticaj na interakciju domaćin / parazit	223
	Literatura.....	225
8.	ULOGA PROTOZOA U SLATKOVODNIM SREDINAMA	227
8.1.	Uvod.....	227
8.1.1.	Relativni značaj protozoa, rotifera i ljuskara u pelagijalnim zajednicama.....	227
8.1.2.	Ekološka uloga protozoa	228
8.2.	Protozoe, alge i nedeterminisane grupe	228
8.3.	Taksonomski diverzitet protozoa u slatkovodnim sistemima	229
8.3.1.	Cilijate	229
8.3.1.1.	Diverzitet cilijata i njihove adaptacije u slatkovodnim sistemima	230
8.3.1.2.	Planktonske i bentosne cilijate	232
8.3.1.3.	Pokretne i sesilne cilijate.....	233
8.3.1.4.	Predatori i filtratori.....	234
8.3.1.5.	Simbiotske asocijacije cilijatnih protozoa	234
8.3.2.	Flagelatne protozoe.....	235
8.3.3.	Ameboidne protozoe.....	237
8.3.3.1.	Evolucione strategije ameboidnih protozoa: heliozoe i rizopodne amebe.....	239
8.3.3.2.	Heliozoa: pasivna ishrana difuzijom	239
8.3.3.3.	Amebe sa rizopodijama: aktivni predatori	240
8.4.	Ekološka uloga protozoa u pelagijskom okruženju	241
8.4.1.	Pozicioniranje protozoa u vodenom stubu	241
8.4.2.	Trofičke interakcije u vodenom stubu	242
8.5.	Heterotrofne nanoflagelate: Integralna komponenta planktonskih zajednica	243
8.5.1.	Brojnost populacija nanoflagelata u vodenim uzorcima	244
8.5.1.1.	Broj živih ćelija	244
8.5.1.2.	Ukupan broj ćelija.....	245
8.5.2.	Taksonomski sastav HNF zajednica.....	245
8.5.3.	Zastupljenost i kontrola flagelatnih populacija.....	246
8.5.4.	Nanoflagelate u kontroli bakterijskih populacija.....	247

8.5.4.1.	Intenzitet (brzina) ishrane flagelata.....	247
8.5.4.2.	Efekti ishrane flagelata na povećanje bakterijskih populacija.....	248
8.5.5.	Distribucija bakterija i protozoa u vodenom stubu.....	249
8.6.	Ekološki uticaj protozoa: bentosno okruženje	250
8.6.1.	Bentosna mikrostaništa.....	251
8.6.1.1.	Zajednice protozoa koje naseljavaju čvrste podloge.....	251
8.6.1.2.	Mikroaerofilna staništa.....	251
8.6.1.3.	Anoksična staništa	252
8.6.1.4.	Protozoe u posebnim biološkim okruženjima.....	252
8.6.2.	Sezonske promene	253
8.6.3.	Organsko zagađenje	253
8.6.4.	Postrojenje za prečišćavanje otpadnih voda: aktivni mulj.....	254
8.6.4.1.	Zajednica protozoa.....	255
8.6.4.2.	Uticaj operativnih parametara na dinamiku zajednice.....	255
9.	EUTROFIZACIJA.....	257
9.1.	Nutritivni status površinskih voda	258
9.2.	Značaj algi u proceni kvaliteta vode	262
9.3.	Eutrofizacije površinskih voda i pojava cvetanja algi i cijanobakterija	263
9.4.	Uloga faktora spoljašnje sredine u pojavi cvetanja algi	265
9.5.	Toksična cvetanja cijanobakterija	267
9.6.	Cijanotoksini - tipovi i karakteristike	268
9.7.	Metode detekcija cijanotoksina.....	276
9.8.	Kontrola cvetanja mikroalgi u površinskim vodama.....	280
	Literatura:.....	283
10.	MIKROORGANIZMI KAO INDIKATORI STANJA I KVALITETA POVRŠINSKIH VODA	285
10.1.	Bakterije kao indikatori kvaliteta površinskih voda sa sanitarnog aspekta	285
10.1.1.	Ukupni koliformi.....	288
10.1.1.1.	MPN	290
10.1.1.2.	Membranska filtracija	291
10.1.1.3.	Test prisustva/odsustva (P/A).....	292
10.1.2.	Fekalni koliformi i <i>E. coli</i>	293
10.1.3.	Fekalne streptokoke – <i>Enterococcus</i>	294
10.1.4.	<i>Clostridium perfringens</i>	296
10.1.5.	<i>Bifidobacterium</i> i <i>Bacteroides</i>	297
10.1.6.	Bakteriofagi	297
10.1.7.	Drugi mogući indikatori.....	299

10.1.8. Primena bakterijskih i virusnih indikatora	300
10.1.8.1. Procena mikrobiološkog kvaliteta voda sa sanitarnog aspekta.....	300
10.2. Bakterije kao indikatori kvaliteta površinskih voda sa opšteg ekološkog aspekta	303
10.2.1. Aerobne heterotrofne mezofilne bakterije	303
10.2.1.1. Poreklo heterotrofnih bakterija	304
10.2.1.2. Određivanje brojnosti aerobnih heterotrofnih bakterija.....	306
10.2.1.3. Aerobne heterotrofne bakterije kao indikator kvaliteta površinskih voda.....	308
10.2.2. Fiziološke grupe bakterija	310
10.3. Enzimaska aktivnost mikroorganizama kao pokazatelj kvaliteta površinskih voda.....	312
10.3.1. Aktivnost beta-D-glukuronidaze kao pokazatelj fekalnog zagađenja.....	312
10.3.2. Određivanje fosfatazne aktivnosti u površinskim vodama	313
10.4. Primena molekularnih metoda u praćenju mikrobiološkog kvaliteta površinskih voda.....	315
10.4.1. Praćenje mikrobioloških izvora (Microbial source tracking MST).....	315
10.4.2. Praćenje mikrobioloških izvora.....	315
Literatura.....	319
11. ALGE KAO BIOINDIKATORI STANJA I KVALITETA POVRŠINSKIH VODA.....	321
11.1. Bioindikacija i biomonitoring u životnoj sredini	322
11.2. Opšti pokazatelji trofičnosti slatkovodnih ekosistema.....	322
11.2.1. Koncentracija hlorofila a –biomasa primarnih producenata	323
11.2.2. Indeks trofičnosti	325
11.2.3. Saprobiološki pokazatelji kvaliteta vode	326
11.3. Specifični pokazatelji kvaliteta vode.....	328
11.3.1. Reke	328
11.3.1.1. Fitoplankton.....	329
11.3.1.2. Fitobentos.....	330
11.3.2. Jezera i rezervoari.....	334
11.3.2.1. Fitoplankton.....	334
11.3.2.2. Fitobentos.....	339
Literatura:.....	339
Spisak Slika	343
Spisak Tabela	350

1. MIKROBIOLOŠKI DIVERZITET U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA

Mikroorganizmi se mogu definisati kao organizmi koji nisu vidljivi golim okom i zahtevaju mikroskop za detaljno posmatranje. Uzima se da je maksimalna veličina mikroorganizama (maksimalna linearna dimenzija) do 200 μm i variraju od virusa, bakterija i arheja, do mikroalgi, gljivica i protozoa. Biljke, makro-alge, beskičmenjaci i kičmenjaci ne spadaju u ovu kategoriju.

Mikroorganizmi naseljavaju vodena staništa koja mogu biti slatkovodna i slana. Slana vodena staništa podrazumevaju pre svega mora i okeane i njih proučava **marinska mikrobiologija**. Pored toga, neka kontinentalna jezera imaju veoma visok salinitet i mikroorganizmi ovih jezera se proučavaju kao halofili. Tu su i mikroorganizmi estuara i polarnih kapa. Ove vode imaju visoku koncentraciju mineralnih materija, visoku provodljivost i osmotski potencijal.

Fiziološki zahtevi života mikroorganizama u slanim i slatkim vodama su toliko različiti da su vodeni mikroorganizmi obično prilagođeni jednom tipu voda, a u drugom ne mogu da opstanu. Ipak, postoje neki mikroorganizmi koji su prilagođeni i slanim i slatkim vodama, kao što je to npr. slučaj sa nekim silikatnim algama.

Mikrobiologija koja proučava mikroorganizme u slatkim vodama naziva se **limnološka mikrobiologija**. Čak i slatkovodna sredina pokazuje velike razlike fizičkih i hemijskih karakteristika, što utiče na mikrobne zajednice koje u njima žive. Slatke vode se dele na:

- **stajaće vode, tj. lentičke sisteme** - bare, jezera, močvare i druga prostorno zatvorena vodena tela i
- **tekuće vode, tj. lotičke sisteme** - reke, estuare i kanale.

Razlike između lentičkog i lotičkog sistema nisu apsolutne, a glavne razlike su u dostupnosti ugljenika i lancima ishrane.

Mikroorganizmi u kontekstu slatkovodnih ekosistema proučavaju se sa sledećih pet aspekata:

- Raznolikost mikrobnih zajednica i interakcije unutar ekosistema, što podrazumeva vremenske promene u sukcesiji i trofične interakcije.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

- Varijacije između različitih sistema životne sredine, uključujući jezera, reke i močvare. Svaki sistem ima svoju heterogenu mikrobnu zajednicu i sopstveni set fizičkih i bioloških karakteristika.
- Karakteristike i aktivnosti pet glavnih grupa mikroorganizama - algi, bakterija, virusa, gljiva i protozoa
- Potreba slatkovodnih mikroorganizama za dva glavna resursa životne sredine – svetlo i neorganske hranljive materije.
- Mikrobni odgovor na eutrofizaciju - ekološki problemi povezani sa povećanjem hranljivih sastojaka su od sve veće važnosti i odražavaju mikrobni odgovor na promene u životnoj sredini i mikrobni efekat na uslove okoline.

U slatkovodnim ekosistemima žive mikroorganizmi iz sva tri domena života: Bacteria, Archea i Eukarya. Ono što je suštinska razlika između ovih domena je organizacija ćelije. Kod bakterija i arhea ćelija je prokariotska, tj. nema oformljeno jedro i nema kompartmentalizacije ćelije u formi membranskih organela, što se sreće kod eukariota. Pored toga, karakteristike prokariota su i 70S ribozomi, prisustvo plazmida i organizacija DNK u formi operona (seta gena koji vrše neku zajedničku funkciju i koji se prepisuju kao jedinstvena iRNK). Razlike između ovih pripadnika prokariota, kao i eukariota, prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1 Tri domena života u slatkovodnim ekosistemima; u domenu Eukarya je 4 carstva, a mikroorganizmi obuhvataju samo prva dva: Protista (protozoe, alge, sluzave gljive), Fungi, Animalia i Plantae

Karakteristike	Domen		
	Bacteria	Archea	Eukarya
Organizacija ćelije	prokariotska	prokariotska	eukariotska
Jedro i organele	odsutni	odsutni	prisutni
Ribozomi	70S	70S	80S
Ćelijski zid	Peptidoglikan	Pseudomurein	Celuloza ili hitin
Membranski lipidi	Negranati, estarske veze	Granati, estarske veze	Negranati, estarske veze
Prva tRNK u ribozomu nosi	Formil-metionin	Metionin	Metionin
Operoni	Prisutni	Prisutni	Odsutni

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Karakteristike	Domen		
	Bacteria	Archea	Eukarya
Plazmidi	Prisutni	Prisutni	Odsutni (retko kod kvasaca)
DNK polimeraze	Jedna	Nekoliko	Tri
Osetljivost na antibiotike (aminoglikozidi, beta laktami, tetraciklini itd)	Da	Ne	Ne
Osetljivost translacije na difterija toksin	Ne	Da	Da
Mogućnost fiksacije atmosferskog azota	Da	Da	Ne
Fotosinteza posredstvom hlorofila	Da	Ne	Da

Domen eukariota obuhvata četiri carstva u okviru kojih se sreću slatkovodni mikroorganizmi:

- protisti (jednoćelijski i kolonijski mikroorganizmi), biljke (višećelijski fotosintetički eukarioti), gljive (jednoćelijski i višećelijski heterotrofi) i životinje (višećelijski heterotrofni eukarioti).
- Protisti uključuje dve važne grupe slatkovodni mikroorganizama - alge i protozoje.

1.1. Veličina mikroorganizama u slatkim vodama

Veličina je važan parametar za sve slatkovodne mikroorganizme, a utiče na njihovu poziciju u vodenoj masi, biološku aktivnost i njihovo uklanjanje predatorima. U slučaju slobodno plutajućih (planktonskih) organizama, maksimalna linearna dimenzija se kreće od $< 0,2 \mu\text{m}$ do $> 200 \mu\text{m}$, sa odvajanjem organizama u pet glavnih kategorija veličine (Tabela 2):

Femtoplankton - Razlika između čestica (nerastvorljivih) i nečestičnog (rastvorljivog) materijala u slatkovodnim sistemima obično se definiše u smislu zadržavanja od strane pora dijametra $0,2 \mu\text{m}$ na membranskim filterima. Na osnovu toga, najmanja grupa, femtoplankton ($<0,2 \mu\text{m}$) spada u nečestičnu kategoriju, a to su virusi i najmanje

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

bakterije, koji su striktno deo rastvorljive organske materije (DOM) ili rastvorljivog organskog uljenika (DOC).

Pikoplankton (0.2–2 μm) - Ova grupa je gotovo u potpunosti sastavljena od prokariota, sa potencijalno brzom stopom rasta i sposobnošću brze kolonizacije slatkovodnih sredina. Ovi organizmi imaju zanemarive stope potonuća i podložni su predaciji od strane rotifera, protozoa i rakova koji se hrane filtracijom. Neki veliki linearni virusi (porodica *Inoviridae*) takođe spadaju u ovu kategoriju.

Nanoplankton (2-20 μm) – U ovu grupu spadaju eukariotske jednoćelijske flagelate, zoospore gljiva, alge i praživotinje. Ovi organizmi su glavna hrana mikro- i makrozooplanktona, imaju nisku stopu potonuća i visoke potencijalne stope rasta.

Mikroplankton (20-200 μm) – Veći mikroplankton se zadržava tradicionalnim mrežicama za fitoplanktona (pore veličine 70 μm) i imaju visoku stopu potonuću u odsustvu struktura koje im omogućavaju flotaciju. Ove organizme kao hranu koriste veći rakovi, kao i pelagijske i bentosne omnivorne (svaštojedne) ribe. Stope rasta su umerene ili male.

Makroplankton (>200 μm) – Oni imaju slične biološke osobine kao i krupniji mikroplanktona, a podrazumeva kolonijalne cijanobakterije i alge, kao i višćelijski zooplankton (rotifere i rakove). U mezotrofnim i eutrofnim jezerima umerene klimatske zone, tipično dominira ova kategorija planktona tokom letnjeg perioda, sa različitim pikovima dominacije kolonijalnih cijanobakterija i algi (dijatomeja) sa jedne strane i zooplanktona (rakovi) sa druge strane. Iako makroplanktonski organizmi sporo rastu, tipično daju najveći doprinos biomasi pod uslovi adekvatnog snabdevanja hranjivim sastojcima.

Tabela 2 Kategorije slatkovodnog planktona u zavisnosti od veličine

Grupa planktona	Velicina (μm)	Virusi	Prokarioti	Alge	Gljive	Zooplankton
Femtoplankton	< 0,2	Većina virusa	Male bakterije	-	-	-
Pikoplankton	0,2-2	Filamentozni virusi	Prokarioti	-	-	-
Nanoplankton	2-20	-	Velike bakterije	Jednoćelijske	Zoospore i hife	-
Mikroplankton	20-200	-	-	Jednićelijske i kolonijske	-	Rotifere, kopepode i

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

						larve
Makroplankton	> 200	-	-	Velike kolonijske	-	Rakovi

1.2. Autotrofi i heterotrofi

Slatkovodni mikroorganizmi se mogu podeliti na osnovu njihove ishrane (trofičnog statusa), tj. izvora ugljenika na dve grupe:

Autotrofi - sintetišu organske materije iz CO₂ iz spoljašnje sredine. Većina dobija hranljive sastojke (npr. azot i fosfor) iz jednostavnih neorganskih jedinjenja. Ovi fototrofni mikroorganizmi uključuju mikroalge i fotosintetske bakterije i glavni su producenti biomase (primarni proizvođači) u mnogim slatkovodnim ekosistemima. Ovo nije uvek slučaj, pošto fotosinteza mikroorganizama može biti nadmašena makroalgama i makrofitama u nekim vodenim sistemima, posebno u močvarnim zajednicama.

Heterotrofi - koriste složena organska jedinjenja kao izvor ugljenika. Većina slatkovodnih mikroorganizama - bakterije, praživotinje i gljive su heterotrofne, pa čak i neke alge. Heterotrofna ishrana uključuje dobijanje organskih materija na tri glavna načina - saprotrofija, predacija i asocijacije sa drugim organizmima.

Saprotrofni organizmi dobijaju hranljive materije iz neživog materijala, a vrše asimilaciju na tri glavna načina: direktno usvajanje rastvorenih jedinjenja (uglavnom bakterije), indirektnom hidrolizom složenih molekula preko enzima koji se luče u spoljašnju sredinu (egzoenzima) (bakterije i gljivice) i usvajanjem čestica, tj. fagocitozom (praživotinje) (Tabela 3).

Tabela 3. Saprotrofni način ishrane

Način ishrane	Grupa organizama	Karakteristike i značaj
Direktno usvajanje rastvorene organske materije - osmotrofija	Planktonske heterotrofne bakterije	Usvajaju DOC koji sekretuje fitoplankton
	Osmotrofne alge i protozoe	U sredinama bogatim rastvorenim organskom materijom
Spoljašnja digestija nerastvorenih organskih jedinjenja	Bakterije, aktinomicete, gljive	Lučenje egzoenzima i usvajanje produkata; npr. bentosni mikroorganizmi u jezerima i potocima bogatim detritusom
	Bakterije	Umnožavaju se i penetriraju u biomasu

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Način ishrane	Grupa organizama	Karakteristike i značaj
	Gljive, aktinomicete	Penetriraju u bimasu preko hifa
Ingestija čestica	protozoe	Usvajaju čestice detritusa putem fagocitoze; tipični bentosni organizmi

Predacija podrazumeva hvatanje, ingestija i unutrašnju digestiju drugih živih organizama (aktivnim kretanjem ili filtriranjem) kao što su bakterije i alge (Tabela 4).

Tabela 4 Predatorski način ishrane

Način ishrane	Grupa organizama	Karakteristike i značaj
Ubijanje i ingestija živih organizama	Protozoe	Hvatanje i ingestija organizama putem fagocitoze; npr. flagelate se hrane bakterioplanktonom
	Heterotrofne alge	U uslovima ograničene fotosinteze hrane se bakterijama ili drugim algama; npr. euglenoidne alge

Konačno, mikroorganizmi mogu stupiti u interakciju sa drugim organizmima kroz parazitizam, simbiozu i komensalizam (tabela 5). **Parazitizam** gotovo uvek uključuje strogu zavisnost parazita od organizma domaćina, što je deo životnog ciklusa parazita. **Komensalni** mikroorganizmi, kao što su epifitne bakterije, protozoe i alge, ne dobijaju direktne hranljive materije iz njihovih domaćina, mada mogu imati indirektno nutritivne koristi. To se vidi u zajednici bakterija sa sluznim kolonijalnim algama, gde dolazi do uske sprege između lokalnog porasta bakterijske populacije i trofičke aktivnosti bakterijskih protozoa.

Ponekad jasna granica između parazitizma i komensalizma ne postoji. Takav je primer prisustvo protozoa *Opalinida* u crevima odrasle žabe, gde se ona hrani mukoznim sekretima i tečnošću u crevu, ali nema prodiranja u tkiva domaćina ili bilo kojeg štetnog efekta na domaćina.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Tabela 5 Asocijacije živih organizama

Način ishrane	Grupa organizama	Karakteristike i značaj
Parazitizam (jednostrano koristan odnos)	Virusi	Obligatni intracelularni paraziti svih mikroorganizama; regulišu brojnost domaćina
	Bakterije	Visokospecijalizovane bakterije, kao što je <i>Bdellovibrio</i>
	Gljive	Gljive parazitiraju na algama i beskičmenjacima
	Protozoe	<i>Giardia</i> spp. Uzrokuje dijareju
Simbioza (obostrana trofička korist)	Bakterije	Asocijacija bakterija i heterocisti cijanobakterija
Komensalizam (nema direktnih nutritivne koristi)	Bakterije, protozoe, alge	Epifitne asocijacije sa drugim organizmima; npr. <i>Vorticella</i> spp. na vodenim rakovima

1.2.1. Neto proizvodnja ekosistema

Ukupna ravnoteža između autotrofnih i heterotrofnih aktivnosti u okviru slatkovodnih zajednica je važan aspekt funkcije ekosistema. Ovo određuje neto razmena ugljenika sa okolnom atmosferom (što utiče na globalno zagrevanje) i može se izraziti kao neto proizvodnja ekosistema (NEP), gde: $NEP = P - R$, gde P predstavlja primarnu produktivnost (usvajanje ugljenika tokom fotosinteze), a R respiraciju organizama (gubitak ugljenika procesom respiracije). NEP ima pozitivnu vrednost u ekosistemima u kojima je neto autotrofni ($P > R$) i negativnu vrednost gde je neto heterotrofni ($P < R$). Ravnoteža između P i R određuje se pomoću relativnog metaboličkog doprinosa autotrofnih i heterotrofnih organizama, što se pak odnosi na parametre životne sredine kao što je dostupnost svetlosti (promocija fototrofije) i dostupnost spolja dobijenog (alohtonog) ugljenika (promovisanje heterotrofije).

Bentosne zajednice variraju od neto heterotrofije (npr. profudalni sedimenti, u kojima dominiraju anaerobne heterotrofne bakterije) do neto autotrofije (npr. plitki jezerski sedimenti, u kojima dominiraju bentosne alge). Tipično pelagične zajednice imaju veću izloženost svetlosti od bentosnih sistema, i (u lentičkim vodenim telima) često imaju veću autotrofni doprinos. Raspoloživost organske materije je važna, jer su jezera sa malo hranljivih sastojaka (oligotrofna) obično neto heterotrofna dok jezera sa puno hranljivih materija (eutrofna) pokazuju neto autotrofiju. Ova razlika nastaje jer oligotrofni uslovi podržavaju samo ograničeno usvajanje ugljenika fototrofijom (niska dostupnost

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

neorganskih hranljivih sastojaka), ali značajna heterotrofija još uvek može nastati usled unosa alohtonog ugljenika.

U eutrofnim jezerima su oba načina ishrane povećana, ali povećana dostupnost rastvorljive neorganske hranljive materije unapređuju autotrofiju u većoj meri. Pelagične zajednice lotičkih sistema mogu takođe pokazivati velike razlike u neto proizvodnji ekosistema, što se vidi na ušćima gde je dotok vode sezonski.

1.3. Planktonski i bentosni organizmi

Slatkovodni organizmi se mogu podeliti na dve glavne grupe, prema mestu gde provode najveći deo njihove faze rasta - pelagični organizmi (prisutni u glavnom delu vode) i bentosni organizmi (povezani sa sedimentom).

Pelagična biota može se dalje podeliti na nekton (izrazito plivajući organizmi poput riba) i plankton (slobodno plutajući). Ovi poslednji imaju tendenciju da se kreću unutar vodnog tela, mada mogu imati ograničenu pokretljivost i postići vertikalno kretanje. Planktonski organizmi, pre svega bakterije i mikroalge, se dalje mogu podeliti na holoplanktonske forme, gde je organizam prisutan u vodenom stubu tokom većeg dela godine i meroplanktonske organizme, gde je planktonska faza vremenski ograničena i smenjuje je bentosna. Pelagični mikroorganizmi su u osnovi planktonski, pa je glavna razlika u slučaju njih između planktonskih i bentosnih. Važno je napomenuti da većina vrsta ima i planktonske i bentosne faze u svom životnom ciklusu, kao što je slučaj sa bakterijama u okviru biofilma.

Prisutni na površini i unutar sedimenata dominiraju biote poput gljivica, praživotinja i bakterije koje su sposobne da razgrade organske ostatke. Raznolikost bentosnih oblika života je posebno dobro predstavljena praživotinjama - pričvršćeni i slobodno pokretni organizmi, sa raznovrsnim mehanizma ishrane. Posebnu grupu bentosnih mikroorganizama predstavlja perifiton. Ovaj pojam se koristi za opisivanje svih 'biljnih' mikroorganizama (mikroflora) prisutnih na nekoj površini, uključujući mikroskopske alge, bakterije i gljivice. Ovaj izraz isključuje animalne mikroorganizme, kao što su mikrobescičmenjaci i protozoe, ali uključuje nitaste alge (npr. *Vaucheria*, *Cladophora*, *Spirogyra* i sl.). Perifiton može biti pričvršćen na žive (npr. biljne površine) ili nežive površine (organske ili neorganske, sa različitim veličinama čestica).

Epifitni organizmi su povezani sa površinama viših biljaka i makroalgi. Supstrat je u ovom slučaju često metabolički aktivan, a epifitska asocijacija može biti važna u kompeticiji za neke ekološke faktore (svetlost, hranljive materije i sl).

Epilitski, epipsamski i epipelni mikroorganizmi rastu na neživim podlogama koje se razlikuju po veličini čestica. **Epilitska** biota se javlja na tvrdom, relativno inertnom

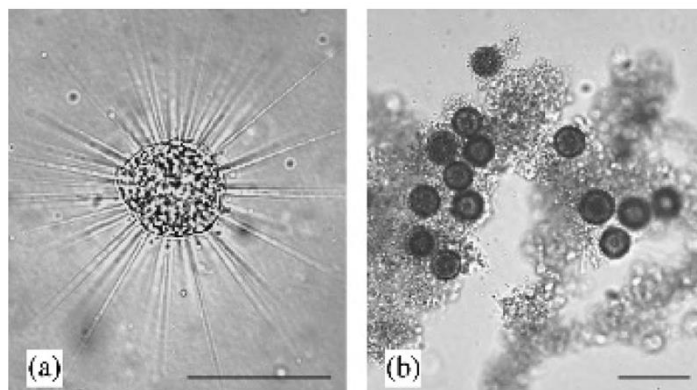
1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

supstratu poput kamenja i stena. **Epipsamski** organizmi prisutni su na pesku, a **epipelni** na finim sedimentima kao što je mulj. Krupniji mikroorganizmi, kao što su alge, ređe žive na peščanim površinama, jer je podloga nestabilna i mogu se oštetiti. Makroskopske alge su prisutne na finim sedimentima, uključujući i velike pokretne alge (dijatomeje, nitaste alge i euglene).

Postoji i grupa bentosnih organizama nalik biljkama uključuje **metafitone** koji su slabo povezani (ne i pričvršćeni) za podlogu. To su npr. nakupine filamentoznih algi kao što su *Zygnema*, *Spirogyra*, *Mougeotia* i sl. One formiraju slabo agregirane nakupine i akumuliraju se u regionima supstrata bez strujanja vode i talasa. Metafiton se može javiti i na površini viših biljaka (**epifiton**).

1.3.1. Dormantne i metabolički aktivne forme mikroorganizama

Iako je većina mikroorganizama u metabolički aktivnim fazama, neki mikroorganizmi mogu biti neaktivni, tj. **dormantni**, kao posledica nepovoljnih uslova ili je posledica prirodnog procesa starenja. U oblastima sa umerenom klimom, mnogi mikroorganizmi prezime na sedimentu u stanju mirovanja. Tipično stvaranje otpornih spora nastaje kako se uslovi životne sredine pogoršavaju (velika gustina populacija, smanjena dostupnost hranljivih sastojaka i svetlosti, akumulacija toksičnih metabolita, smanjena temperatura), a tom procesu može prethoditi seksualna reprodukcija. U nekim slučajevima, mirovanje se odnosi na određenu promenu životne sredine, kao što je koncentracija kiseonika. U vodenom stubu jezera, obligatni anaerobi poput fotosintetskih purpurnih bakterija su metabolički aktivne u anaerobnom hipolimnionu tokom stratifikacije, ali prezimljavaju u nakupinama organskog materijala (flokovima) gde dospevaju tokom jesenjeg mešanja vode. Slično se dešava i sa drugim mikroorganizmima, uključujući i protozoe (slika 1).



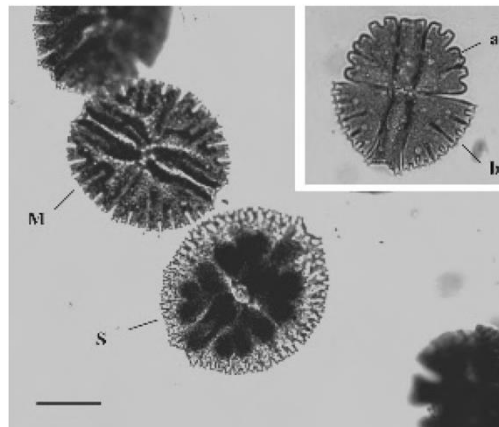
Slika 1. Aktivna i neaktivna forma *Actinophrys*, helioidne amebe: (a) aktivna pelagijska faza sa aksopodijama koje se radijalno šire iz centralnog dela i koje hvataju plen pasivnim kontaktom (flagelate i druge protozoe); (b) metabolički neaktivna faza u bentosu;

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

uočavaju se grupe gustih, otpornih cisti sa detritusom, a nastaje od pelagijske faze kada nema dovoljno hrane (skala 50 μm)

Kod bakterija metabolička neaktivnost je takođe u vezi sa hranljivim sastojcima. Poređenja ukupnog broja bakterija i živih (vijabilnih; najtačniji izraz kultivabilnih) ukazuje da je samo mali deo vodenih populacija metabolički aktivan. Bakterije ostaju inertne dok se ne ostvare odgovarajuće uslovi rasta, a pre svega dovoljna količina hranljivih materija. Virusi su takođe metabolički neaktivni u vodenom medijumu i samo se aktiviraju kada naiđu na zdravu ćeliju domaćina. U vodi virusi su u inertnom stanju i egzistiraju kao slobodne infektivne čestice (virioni).

U dinamici mikrobnih zajednica važnu ulogu igraju i starenje i ćelijska smrt. U nekim slučajevima dolazi do smrti mikroorganizama zbog nepovoljnih uslova ili zbog parazitizma, predatorstva i sl. Starenje se javlja nakon većeg broja deoba i završava se smrću ćelije. Starenje se obično očituje u morfološkim promenama ćelije. Tako kod alge roda *Micrasterias* mlade ćelije se sastoje iz dve polućelije i svaka ima sopstveni hloroplast. Mlade ćelije koje su se upravo podelile imaju jednu polovinu polućelije, a druga raste i tek posle određenog vremena dostiže punu veličinu. Kod ćelija koje stare hloroplasti se kondenzuju ka centru, a zatim alga gubi pigment i umire (slika 2).



Slika 2. Ciklus umiranja i regeneracije algi (skala 50 μm): (M) mlada ćelija; (S) ćelija koja umire; (a) „ćerka“ polućelija koja se formira; (b) „majka“ polućelija

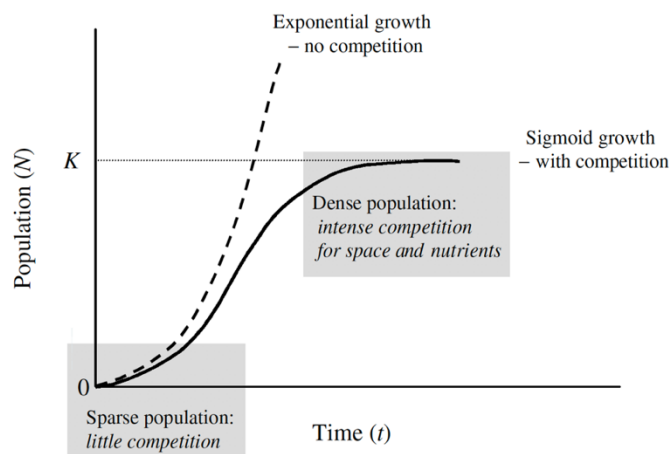
1.4. K i R selekcija

U populacijama se neprestano dešavaju deobe i odumiranja ćelija, pa se kontinuirani rast može objasniti preko dve evolutivne strategije: k i R selekcije. Brzina kojom se populacija jedne vrste (N) povećanje sa vremenom biće označeno sa $dN = dt$. Povećanje veličine celokupne populacije je zbir doprinosa rasta svih jedinki, pa će stopa porasta po jedinki biti:

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

$$r = dN/dt [1/N]$$

odnosno $rN = dN/dt$. Parametar r se naziva i „po glavi“ stopa povećanja i opisuje osnovnu sposobnost pojedinih organizama da rastu i razmnožavaju se. Gornja jednačina opisuje rast populacije u uslovima neograničenih resursa i uzrokuje eksponencijalni porast populacije tokom vremena. U praksi, intra-specijska kompeticija za resurse (posebno hranljive materije i prostor) takođe moraju biti uzeti u obzir, a kriva rasta populacije je u tom slučaju sigmoidna (slika 3). U ovoj situaciji populacija (N) raste do maksimalne vrednosti (K), koja je maksimalna vrednost (nosivost) koju sredina može da podrži. Jednačina rasta koja opisuje sigmoidnu krivu je logistička jednačina oblika: $dN/dt = rN(K-N/K)$. Ova sigmoidna kriva je dobro poznata u mikrobiologiji, jer opisuje rast u stacionarnoj kulturi, sa logaritamskim rastom i stacionarnom fazom. U donjem delu krivine (faza zaostajanja), kada je gustina populacije mala, populacija počinje da kolonizuje nove sredine, a između ćelija ima veoma malo kompeticije. Kako se populacija približava nosećem kapacitetu (K), resursi postaju ograničeni i nivo kompeticije je visok.



Slika 3. Efekat intraspecijske kompeticije na rast populacije jedne vrste (Begon et al., 1996)

Karakteristike rast jedne kulture u laboratorijskim uslovima može se primeniti i na slatkovodne ekosisteme, gde se javljaju mešovite populacije. Neke sredine imaju malu gustinu naseljenosti, sa dominacijom organizama koji su prilagođeni za visoke stope rasta i brzu kolonizaciju, dok druge imaju veliku gustinu naseljenosti i u njima dominiraju mikroorganizmi koji su prilagođeni na visoku kompeticiju. Ova osnovna razlika između dva glavna tipa adaptacije prvi su opisali MacArthur i Wilson (1967) u odnosu na razlike u selektivnom pritisku u različitim fazama kolonizacije okeanskih ostrva. Ovi autori su razdvojili organizame sa **r strategijom**, koji su bili prvi kolonizatori ostrva i sa **K strategijom**, koji su prilagođeni uslovima sa većom „gužvom“, koji se kasnije javljaju. U slabo naseljenim sredinama organizmi mogu brzo da rastu i razmnožavaju se, sa visokom produktivnošću i ta strategija je najpogodnija za dominaciju u nekoj sredini. Naknadno ih

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

zamenjuju organizmi koji više odgovaraju prenaseljenoj zajednici koja se približava ograničenju populacija i označeni su kao K-stratezi. Pojmovi r i K su izvedeni iz logističke jednačine za rast populacije, a rast „po glavi“ (r) se maksimizira u uslovima sa malom gustinom populacije. Kako se gustina povećava, opada stopa rasta „po glavi“ dok se gustina naseljenosti ne uravnoteži do svog gornjeg nivoa ili nosivosti (K) (tabela 6).

Tabela 6 Biološke karakteristike spoljašnje sredine i strategije organizama.

Ekološki parametar	Dominacija r-selektovanih mikroorganizama	Dominacija K-selektovanih mikroorganizama
Primer	Čista jezerska voda sa biofilmom u formiranju	Jesenje cvetanje i zreo biofilm
Gustina populacije	Mala	Velika
Biološki diverzitet	Mali ili umeren	Velik
Kompeticija	Mala	Velika
Akumulacija metabolita u vodi	mala	Velika- DOC i toksini cijanobakterija
Prostor	Velika dostupnost prostora i nutrijenata	Ograničen
Podložnost parazitizmu	Mala, osim u uslovima visokog stresa	Velika zbog velike gustine populacije
Stabilnost populacije	Mala, populacije podložne naglim promenama	Velika
Nivo stresa	Mala (u biofilmu) ili velika (u vodi)	Mala (cvetanje algi) ili velika (cvetanje cijanobakterija)

Prilagođavanje r- i K-stratega sredini sa različitom gustinom naseljenosti ima različite biološke implikacije, uključujući razlike u biološkoj raznolikosti, konkurenciji, akumulaciji metabolita, dostupnost resursa i sl. Pojava ekološkog stresa može biti visoka ili niska u obe situacije, u zavisnosti od konkretnih uslova. Prilagođavanje r-stratega nenaseljenim sredinama čine ih pogodnim i za nestabilne sredine, gde je rast ograničen na kratak vremenski period i gde se ne može uspostaviti velika gustina populacije. Pod takvim uslovima sposobnost ovih organizama da brzo rastu i eksploatišu sve mogućnosti za rast daju ovim organizmima konkurentsku prednost. U skladu sa ovim, r-stratezi su obično mali, sa kratkim životnim vekom i visokom stopom rasta. Nasuprot tome, K-stratezi

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

prilagođeni su stabilnim uslovima životne sredine, gde se formiraju guste populacije i brzi rast nije prednost. Sve grupe slatkovodnih mikroorganizama imaju predstavnike i sa r- i sa K-strategijom i sve vodene sredine imaju uslove u kojima je favorizovana jedna od ove dve strategije. Primeri korišćenja r-strategije su planktonske bakterije, koje su inertne veći deo životnog ciklusa, a razmnožavaju se u kraćim vremenskim intervalima, kada im uslovi sredine to dozvole. Predstavnici fitoplanktona koriste obe strategije, ali postoje i alge koje koriste prvenstveno K strategiju (npr. dinoflagelate).

1.4.1. Ekosistemi

Pojedinačni mikroorganizmi su deo većih grupa ili zajednice, i svako razmatranje biodiverziteta mora uzeti u obzir širu zajednicu i sredinu u kojoj se organizmi javlja. Mikrobna zajednica je grupa koja se prirodno javlja na određenom mestu, kao što su a jezero ili potok. Pojava i interakcije organizama koji žive u određenom okruženju čini funkcionalnu celinu koja se naziva ekološki sistem ili „ekosistem“. Ekosistem ima dve glavne komponente - biom ili zajednicu organizama (sve grupa organizama) i stanište (fizičko okruženje). Svaki određeni ekosistem može se donekle smatrati samostalnim i predstavlja osnovnu jedinicu ekologije. Ekosistemi su sami deo većeg geografskog ili globalnog sistema, biosfere, koja je zbir svih ekosistema u okviru određene zone.

Diverzitet se može posmatrati na tri hijerarhijska nivoa – **glavni ekosistemi, pomoćne (subsidiarne) zajednice i vrste** (tabele 7 i 8).

Tabela 7 Diverzitet vrsta, zajednica i grupa zajednica na različitim nivoima organizacije slatkovodnih ekosistema

Ekološka jedinica	Biološki diverzitet
Glavni ekosistem (npr. jezera, reke, močvare)	Kombinacija pomoćnih ekosistema, svaki sa svojom zajednicom
Pomoćne zajednice (npr. biofilm, pelagijske zajednice)	Jedna zajednica sa različitim tipovima organizama i različitim vrstama
Populacije od jedne vrste (npr. jedna vrsta alge u vodenom stubu)	Diverzitet u okviru vrste – molekularne, hemijske i fiziološke varijacije

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Tabela 8 Pomoćne zajednice u centralnoj i litoralnoj zoni jezera umerenih područja

Deo jezera	Pomoćne zajednice	Fizičke karakterisitike
Centralna zona	Pelagijske zajednice	Razlikuje se u vodenom stubu – epilimnion i hipolimnion
	Neuston	Površinski mikrosloj jezera
	Fikosfera	Sluzave kolonije – pričvršćivanje i matriks za biote
	Fotosintetske bakterije	Vrh hipolimniona – anaerobi sa ograničenim osvetljenjem
	Bentos	Donji deo vodenog stuba i sediment; anaerobna sredina, bogata hranom, bez svetlosti
Litoralna zona	Makrofite	Jako osvetljenje
	Gornji perifiton (eulitoral)	Velika osunčanost i visoka temperatura, sa talasanjem vode
	Donji perifiton (sublitoral)	Termalno stabilna zona, sa manje svetlosti i turbulencije
	Epifite na makrofitama	Pričvršćeni na površini biljke; puno svetlosti, kiseonika; pokretanje vode
	Bakterijski i algalni biofilmovi	Tanak površinski sloj na čvrstom supstratu

Vodene sredine kao što su jezera, reke ili močvare čine diskretnu ekološku celinu, sa sopstvenom karakterističnom zajednicom organizama i mogu se nazvati glavnim ekosistemima. Svaki od ovih glavnih ekosistema sadrži raznovrsne grupa organizama (pomoćne zajednice), koje formiraju supsidijarne ekosisteme. Kao primer za to, tipično jezero u umerenom pojasu (glavni ekosistem) možemo podeliti na dva glavna regiona – periferna, obalska (litoralna) zona i centralna zona, svaka sa svojim pomoćnim zajednicama i ekosistemima. Centralna zona se može podeliti na pelagične i bentosne grupe organizama, sa daljom podelom pelagičnih na neuston, fikosferu i fotosintetske bakterijske zajednice.

Litoralnom zonom jezera dominiraju pričvršćeni organizmi, koji u eutrofnim jezerima mogu biti podeljeni u tri glavne grupe - makrofite, gornji i donji perifiton.

Unutar njih, javljaju se različite prepoznatljive mikrobne zajednice koje uključuju epifitske zajednice na listovima makrofita i biofilmovima algi i bakterija na površinama stena.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Iako ove različite grupe organizama imaju određen stepen autonomije, svi su međusobno povezani u okviru glavnog ekosistema. Pelagične i bentosne zajednice, na primer, mogu izgledati veoma različito tokom letnje faze rasta eutrofnih jezera, ali bentoska zajednica zavisi od kontinuiranog dospevanja biomase iz pelagične zone taloženjem, a populacije planktonskih organizama nastaju regrutovanjem iz donje zone.

Različite zajednice imaju svoje osobene obrasce organizama sa sopstvenim nivoom biodiverziteta. Unutar ovih zajednica, ova raznolikost se može meriti na različite načine, uključujući varijacije u veličini organizama, pričvršćene i slobodno plivajuće biote, proporcije autotrofnih i heterotrofnih vrsta i sl. U praksi je diverzitet često određen sastavom vrsta. Fenotipska i genetska raznolikost unutar populacije pojedinih vrsta u ekosistema predstavlja važno, ali relativno neistražena oblast biološke raznolikosti u slatkovodnim sistemima. Jedan od problema u proučavanju varijabilnosti na ovom nivou odnosi se na klasične biohemijske tehnike koje su teško primenjive na pojedinačne vrste u populacijama.

Korišćenje analitičkih mikroskopskih tehnika, međutim, prevazilazi ovaj problem jer savremeni mikroskopi imaju dovoljnu prostornu rezoluciju za određivanje hemijskog i molekularnog sastava pojedinačnih mikroorganizama u mešovitim populacijama. Primer za ovo je proučavanje populacije algi upotrebom svetlosnog mikroskopa sa infracrvenom spektroskopijom, koji omogućava utvrđivanje vibracionih stanja različitih molekularnih grupa, kao i korišćenje rentgenskog snimanja elektronskim mikroskopom uz mikroanalizu varijacije elementarnog sastava. Oba ova pristupa su pokazala značajnu varijabilnost unutar jedne vrste u populaciji. Molekularne tehnike takođe imaju znatan potencijal za sagledavanje biodiverziteta u okviru jedne populacije vrste, a korišćene su za proučavanje različitih aspekata genetičkih varijacija unutar prirodnih populacija. Tu spadaju varijacije podvrsta (soj) npr. cijanobakterija ili varijacije plazmida rezistencije kod bakterija. Razlike između planktonskih bakterija i onih pričvršćenih u biofilmu u smislu ekspresije gena u stacionarnoj fazi takođe čine važne intraspecijske varijacije.

1.5. Ekosistem

Ekosistemi se razlikuju po veličini i sastavu i sadrže širok spektar organizama koji komuniciraju kako međusobno, tako i sa okolinom. Pojedini ekosistemi imaju niz važnih svojstava:

- različit obrazac interakcija između organizama,
- definisane pravce stvaranja i prenosa biomase,
- održavanje unutrašnjeg okruženja i
- interakcije sa spoljnim okruženjem.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Raspon organizama prisutnih u vodenim zajednicama definišu i karakterišu dotični sistem, i uključeni su u generisanje i prenos biomase. Imaju različite uloge i interakcije unutar ekosistema, koje zauzimaju poseban trofički nivo i formiraju međusobno povezan sistem odnosa ishrane (trofičke mreže, lanci ishrane). Ravnoteža pojedinih vrsta unutar trofičke mreže određuje se prvenstveno resursom (svetlost, dostupnost hranljive materije) i kompeticijom. Ovo zauzvrat utiče na raznolikost u opsegu i proporcijama različitih organizama (biodiverzitet), sa važnim implikacijama za celokupno funkcionisanje sistema. Struktura zajednice je usko povezana sa stabilnošću ekosistemom i nivoom fizičkog stresa u životnoj sredini. Interakcije između ekosistema i njihove okoline ispoljavaju se na različite načine. Jedan primer za to je neto razmena ugljenika između vodenog ekosistema i okoline, koja se može kvantifikovati u odnosu na neto proizvodnju ekosistema (NEP).

U daljem tekstu će biti opisana dinamička svojstva slatkovodne zajednice u okviru dva ekosistema gde mikroorganizmi imaju ključnu ulogu – mikrobni biofilm i pelagični ekosistem jezera. Mikrobni biofilm je mali ekosistem sastavljen u potpunosti od mikroorganizama, dok pelagični ekosistem je velika funkcionalna jedinica koja sadrži različite biote.

1.6. Biofilmovi – mali ekosistemi

Mikrobni biofilmovi pružaju koristan model sistem za razmatranje osnovnih aspekata interakcije zajednice i funkcionisanja ekosistema. Njihov mali obim čini ih pogodnim za laboratorijska ispitivanja, pre svega za ispitivanje efekta neposredne blizine organizama u biofilmu i njihove biološke interakcije. Mikrobni biofilmovi se javljaju kao diskretne zajednice unutar želatinoznog matriksa i prisutni su kao površinski sloj na stenama i kamenju u jezerima i rekama. Biološki sastav biofilmova varira od uslova okoline, uključujući faktore kao što su intenzitet ambijentalnog svetla, protok vode i redosled kolonizacije. U nekim slučajevima su u potpunosti bakterijski, dok neki naseljeni dijatomeja i razvijaju se u veće zajednice perifitona (tabela 9). Na slici je zreli heterogeni biofilm, kakav bi se mogao pojaviti na rečnom supstratu u uslovima ograničenog svetla, a sastoji se od zajednica sastavljenih uglavnom od bakterija, sa algama, praživotinjama i gljivama.

Tabela 9 Glavne ekosistemske funkcije u mešovitim mikrobnim zajednicama biofilma

Interakcije između mikroorganizama

Transfer gena

Kompeticija za prostor i nutrijente

Interakcije sa spoljašnjom sredinom

Apsorpcija svetlosti od strane algi

Usvajanje neorganskih nutrijenata

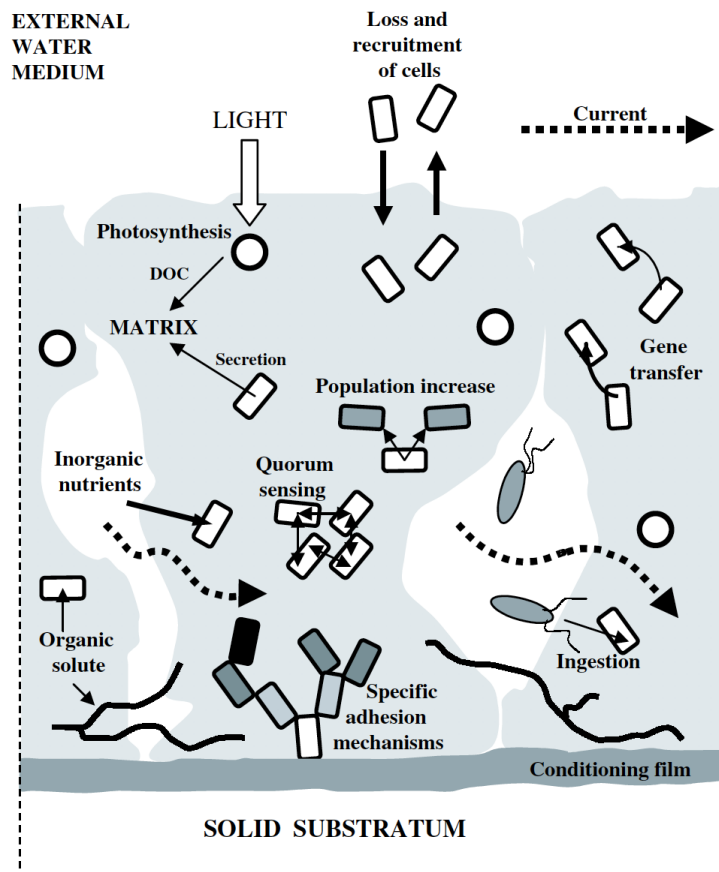
1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Quorum sensing	Gubitak i oporavak bakterija
Specifična adhezija	Kolonizacija algama, gljivicama i protozoama
Definisana sekvenca kolonizacije	
Održavanje unutrašnje sredine	Formiranje i transfer biomase, protok energije i ugljenika
Produkcija matriksa	Fiksiranje ugljenika od strane algi
Ravnoteža u dinamici populacije u biofilmu	Preuzimanje kompleksnih rastvora od strane bakterija i algi
Nema neto nastanka i gubitka ćelija (ravnoteža)	Ingestija čestica od strane protozoa
Ravnoteža ćelijskih tipova – specifični adhezioni mehanizmi	

Organizmi su u velikoj meri prisutni u želatinoznom matriksu od egzopolisaharida bakterija i ekstracelularne DNK (eDNK) koja se oslobađa lizom ćelija. Matriks tipično ima izgled stuba (pečurkaste tvorevine), sa kanalima ili porama između stubova kroz koje protiče voda. Mikrobni biofilm deli osobine sa ostalim malim mikrobnim organizama (npr. neuston i fikosfera) ekosistema i sa velikim ekosistemima i ključnim karakteristikama - interakcije između, prenos biomase, homeostaza i interakcije sa spoljašnjom sredinom.

U biofilmovima bakterije stupaju u međusobne interakcije, ali i interakcije sa drugim mikroorganizmima. Ove interakcije određuju strukturu i diverzitet biofilma, uključujući transfer gena, quorum sensing i specifične procese adhezije. Trofičke interakcije uspostavljaju se i sa drugim organizmima i deo su složenih lanaca ishrane (slika 3).

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima



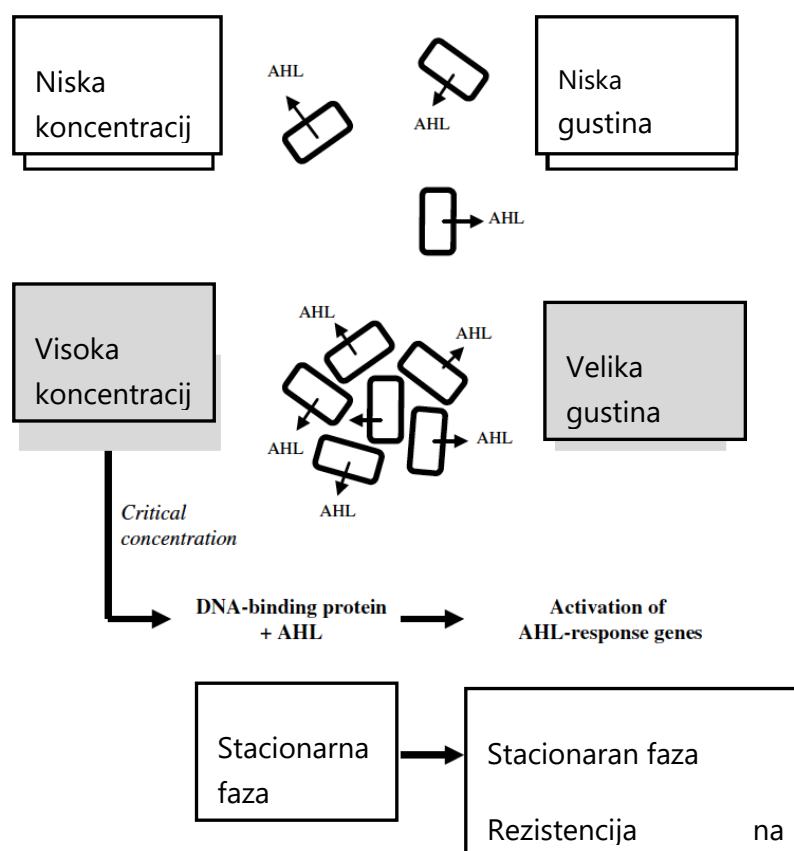
Slika 3. Biološke interakcije u biofilmu – malom mikrobnom ekosistemu. Nalazi se na površini kamenja i litoralne zone jezera, a debljina se kreće od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetara. Različiti mikroorganizmi su predstavljeni različitim simbolima: beli pravougaonici – bakterije; beli krugovi – protozoe; sive elipse – protozoe; crne linije – gljive; u zrelom biofilmu matriks (siva zona) je visoko strukturiran, javlja se sa intersticijalnim prostorom kroz koji voda može da protiče (isprekidana linija sa strelicom). Voda takođe protiče po površini biofilma. Pune strelice povezuju organizme sa određenim aktivnostima.

1.6.1. Quorum sensing

Fiziološke aktivnosti bakterija se znatno razlikuju u zavisnosti od gustine naseljenosti (broj ćelija po jedinici zapremine medijuma). Obrazac genetičke aktivnosti se značajno razlikuje u okviru jedne vrste, između planktonskih populacija i populacija u biofilmu. Glavni mehanizam kojim se ostvaruju razlike u ekspresiji gena označava se kao „Otkrivanje kvoruma“ (quorum sensing, kvorum sensing) i kod gram negativnih bakterija zavisi od oslobađanja signalnog molekula acil homoserin laktona (AHL) u vodenu sredinu, dok su kod gram pozitivnih odgovorni mali peptidi. Pri maloj gustini naseljenosti, oslobađanje AHL rezultira niskim koncentracijama signalnog molekula u vodeni medijum i nema promene ekspresije gena. Pri visokoj gustini naseljenosti, koncentracija AHL u vodi dostiže kritični nivo, aktivirajući transkripcione faktore

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

(vezivanjem za njih) i ekspresiju gena koji reaguju na AHL (slika 4). Pokazano je da su ovi geni koji reaguju na AHL prisutni kod mnogih bakterija biofilma (uključujući *Pseudomonas aeruginosa*) i da utiču na biofilm. Oni kodiraju razne ćelijske funkcije, uključujući regulaciju gustine naseljenosti, faktore virulencije i karakteristike stacionarne faze. Indukcija stacionarne faze u biofilmu je važna karakteristika biofilмова i razlikuje se u odnosu na planktonske ćelije. Kod pseudomonasa se aktivira sigma faktor stacionarne faze RpoS, koji aktivira širok spektar osobina. Ovo uključuje veću rezistenciju na antibiotike, smanjenje lučenja proteaze, smanjena pokretljivost i viši nivo sinteze ekstracelularnih polisaharida (EPS). Ove promene promoviraju formiranje matriksa biofilma i zadržavanje ćelija unutar površinskog filma (smanjena pokretljivost), i stoga su presudne u formiranju i održavanju ekosistema biofilma.



Slika 4. Quorum sensing kod gram negativnih bakterija – indukcija stacionarne faze pri visokoj gustini ćelija u biofilmu (AHL – acilhomoserin laktoni)

1.6.1. Povezivanje mikroorganizama u biofilmu

Specifični mehanizmi adhezije su važni u formiranju biofilma. Ćelije mogu da adheriraju jedna za drugu u planktonskom stanju i ako pripadaju istoj vrsti/soju, a to se naziva **autoagregacija**. Ako se ovo dešava između ćelija različite vrste naziva se **koagregacija**. Ako jedna vrsta adherira, a na nju adherira druga, to se naziva **koadhezija**. Koadhezija je važna u sekundarnoj kolonizaciji i sazrevanju bakterijskog biofilma. Tokom razvoja

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

biofilma, različite vrste bakterija ulaze u zajednicu u različito vreme i postoji potreba za određene sisteme prepoznavanja radi održavanja neophodnog redosleda i hijerarhije udruživanja. To se postiže specifičnom koagregacijom, koja uključuje prepoznavanje posredovano receptorima i specifično vezivanje između različitih vrsta bakterija.

Trofičke interakcije, kao što je ingestija bakterija biofilma, dijatomeja i cijanobakterija vrše praživotinje koje se kreću preko potopljenih površina. Ove praživotinje uključuju hipotrihe cilijate, hipostomske cilijate (sa ventralnim ustima) kao i bonidne i euglenoidne bičare. Ingestija mikroorganizama biofilma je prva faza u nizu transfera biomase koji čine trofičku mrežu ekosistema biofilma, ali se takođe povezuje sa trofičkom mrežom šireg jezerskog ili rečnog ekosistema. Pored protozoa, površinskim delom biofilma se hrane i veći beskičmenjaci poput puževa i larve Ephemeroptera i Trichoptera. Ovi veći organizmi su strani u zajednici biofilmova.

O formiranju biomase i prenosu hranljivih sastojaka u vodenim biofilmovima poznato je relativno malo. Prisustvo autotrofnih algi poput dijatomeja i cijanobakterija stvaraju fiksirani ugljenik fotosintezom, i očekuje se oslobađanje rastvorenog organskog ugljenika (DOC) u izvesnoj meri. Dolazi do prenosa biomase ingestijam ćelija i drugih čestica od strane praživotinja i beskičmenjaka i takođe asimilacijom izlučenog organskog materijala kao što su DOC i matriks od strane bakterija i gljivica. Eksterni organski materijal takođe može dospeti u biofilmove i postati deo prenosa biomase.

Kada se formira zreo biofilm to rezultira u stabilnom i uravnoteženom unutrašnjom sredinom koja ima dve glavne komponente:

- **Želatinozni matriks**, koji luče bakterije i formiraju složenu arhitekturu koja uključuje unutrašnji prostori (**pore i kanali**) sa cirkulacijom vode koja biofilm povezuje sa spoljnim medijem.
- **Populacije** različitih mikroorganizama koji su u stanju ravnoteže.

Jednom kada se biofilm uspostavi, unutrašnje okruženje će se održavati i kontrolisati od strane rezidentnih mikroorganizama. Ovo uključuje sledeće procese:

- **Nastavak proizvodnje želatinoznog matriksa.** Nastavak sekrecije vanćelijskih polisaharida (EPS) matriksa od strane bakterijskih ćelija ima tendenciju da uravnoteži gubitak nastao odvajanjem delova biofilma na površini.
- **Kontrolisani rast populacije.** Stope rasta bakterija u biofilmu kontrolišu sistemi za quorum sensing koji deluje kao negativna povratna sprega. Okidač je velika gustina bakterija karakteristična za stacionarnu fazu, uključujući smanjene stope deoba. Ako se populacija bakterija redukuje (npr. zbog ingestije) quorum sensing neće funkcionisati, a broj deoba će se povećavati.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

- **Ravnoteža mešoviti populacija.** Bilans različitih organizama će biti određen diferencijalnom stopom rasta, stabilnim trofičkim mrežama i specifičnim mehanizmima prijanjanja. Ovo drugo je posebno važan tokom formiranja i sazrevanja biofilma, kada se menja obrazac sastava vrsta koji prati kolonizaciju sa diferencijalnim prepoznavanjem i karakteristikama adhezije. Ove karakteristike mogu takođe da kontrolišu ulazak bakterija u zrele biofilme i njihovo zadržavanje u zajednici.

Iako mikrobni biofilmovi deluju kao funkcionalne (i donekle samostalne) jedinice, ne mogu se odvojiti ni od fizičko-hemijskih ni bioloških faktora spoljašnje sredine. Važna fizičko-hemijska karakteristike uključuju svetlost (obavezna za fotosintezu), neorganske hranljive materije, rastvorljive organske hranljive materije i rastvoreni kiseonik. Unos i izlazak rastvorljivih komponenata u i iz biofilma se promoviše unutrašnjom cirkulacijom vode i dovodi do gradjenata koncentracije unutar matriksa. Ovi gradijenti koncentracije mogu biti važne odrednice fiziologije i mikrostrukture lokalnog biofilma. Na potencijalni značaj hranljivih sastojaka ukazuju laboratorijske studije na monospecijskim biofilmovima, koji sugerišu da je struktura biofilma pod velikim uticajem koncentracije i kvaliteta hranljivih sastojaka. Spoljašnje biotičko okruženje takođe ima direktni uticaj na biofilme. Oni se ispoljavaju kroz aktivnost ispaše od strane beskičmenjaka, a takođe i ulazak i gubitak rezidentnih mikroba u dodiru sa vodom. Ulazak čestica (taloženjem) ili rastvora (protok vode) organskih materija u biofilmu je dalji biotički efekat koji daje važnu osnovu za heterotrofnu ishranu.

1.7. Pelagični sistem u jezeru

Pelagični ekosistemi zauzimaju glavnu masu vode jezera i sadrže najveću pomoćnu zajednicu u okviru glavnog jezerskog ekosistema, koji obuhvata sve slobodno plutajuće (planktonske) i jako plivajuće (nektonske) organizmi. Pelagični ekosistemi jezera zauzimaju najveći volumen svih slatkovodnih voda (izuzev snega i leda) i pokazuju velike sličnosti sa morskim pelagičnim ekosistemima mora i okeana.

U pelagijskom sistemu se javljaju razne interakcije organizama: kompeticija, antagonizam, trofičke interakcije i epifitne asocijacije (tabela 10).

Kompeticija za resurse poput svetlosti i neorganskih hranljivih materija (silikati, fosfati, nitrati) su važan faktor koji doprinosi određivanju relativne sposobnosti populacija različitih vrsta da rastu i dominiraju pelagičnom sredinom. U slučajevima u kojima se javlja kompeticija za više hranljivih sastojaka, može doći do promene u dominaciji algi sa promenom ravnoteže hranljivih sastojaka. Antagonističke interakcije se takođe mogu pojaviti kao deo kompeticije za resurse, omogućavajući populacijama uspešnih antagonista da koriste resurse i takođe generišu hranljive materije iz ciljnih organizam.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Posebno slatkovodne bakterije, za koje je poznato da proizvode niz antialgalnih metabolita, mogu biti važni kao antagonisti u prekidanju cvetanja algi, a takođe su potencijalno korisni kao agensi za biološku kontrolu. Dominacija cijanobakterija u uslovima cvetanja takođe se može smatrati antagonističkom aktivnošću, jer nizak CO₂ / povišen pH u mikro okruženju stvoreno od ovih organizama inhibira rast eukariotskih algi u gornjim delovima vodenog stuba.

Trofične interakcije u pelagičnoj zoni su često vrlo specifične i mogu rezultirati bliskom spregom određenih mikrobioloških populacija. Ovo je slučaj sa heterotrofnim bakterijama i fitoplanktonom, koji su povezane proizvodnjom DOC algi. Trofična veza se takođe javlja između bakterija i predatorskih heterotrofnih nanoflagelata (HNF), sa nagomilavanjem populacije HNF-a u nekim jezerima u doba visokog broja bakterija. Parazitske, virusne i/ili gljivične infekcije jezerskih bakterija i fitoplanktona daju primere visoko specifičnih mikrobnih interakcija i ekološki su važne u ograničavanju rasta i produktivnosti populacije domaćina.

Tabela 10 Interakcije mikroorganizama u pelagijalu

Tip interakcije	Interakcije između organizama	Parametri u vezi sa interakcijom
Kompeticija za resurse	Između fitoplanktona	Svetlost i neorganski nutijenti
	Između fitoplanktona i bakterija	Neorganski nutijenti
Antagonizam	Represija eukariotskih algi cijanobakterijama	CO ₂ /pH ekvilibrijum pri cvetanju
	Destrukcija cijanobakterija od strane bakterija	Antimikrobna jedinjenja
Trofičke interakcije	Asocijacije bakterija i cijanobakterija	Simbioza bakterija sa heterocistom
	Povezanost produktivnosti bakterija i fitoplanktona	Produkcija i potrošnja DOC
	Ingestija bakterija od strane protozoa	Kontrola bakterijske populacije
	Virusne infekcije cijanofagima i fikofagima	Parazitska kontrola cijanobakterija i algi
	Infekcija fitoplanktona hitridnim gljivama	Parazitska kontrola algi
	Infekcija bakterija fagima	Parazitska kontrola bakterija

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Tip interakcije	Interakcije između organizama	Parametri u veći sa interakcijom
Epifitne asocijacije	Asocijacije protozoa, bakterija i algi sa kolonijama cijanobakterija	Prostorna asocijacija i nutritivna interakcija sa domaćinom Lokalni mikrokosmos; trofičke mreže različitih mikroba

Epifitske asocijacije su česte u pelagijskom okruženju, sa mnogo jednoćelijskih organizama (bakterije, praživotinje i alge) koji se javljaju na (ili unutar) površini većih biota kao što su kolonijalne alge i zooplankton. Izuzev cijanobakterija sa heterocistama i bakterija, malo se zna o mogućoj razmeni hranljivih materija između epifita i domaćina. Epifitska mesta kao što su kolonijalne cijanobakterije, trofički su značajne u obezbeđivanju aktivnosti mikrobnog mikrokosmosa. Epifitska mesta takođe obezbeđuju površinu za vezivanje u delu jezera koje je inače lišeno podloge i omogućavaju planktonskim organizmima da postoje u ravnoteži sa sedentarnim (ne-planktonskim) fazama.

Značaj mikrobnih interakcija vidi se u pelagičnom ekosistemu umerenih jezera u sezonskom napredovanju biomase i populacija koje se javljaju tokom sezone rasta.

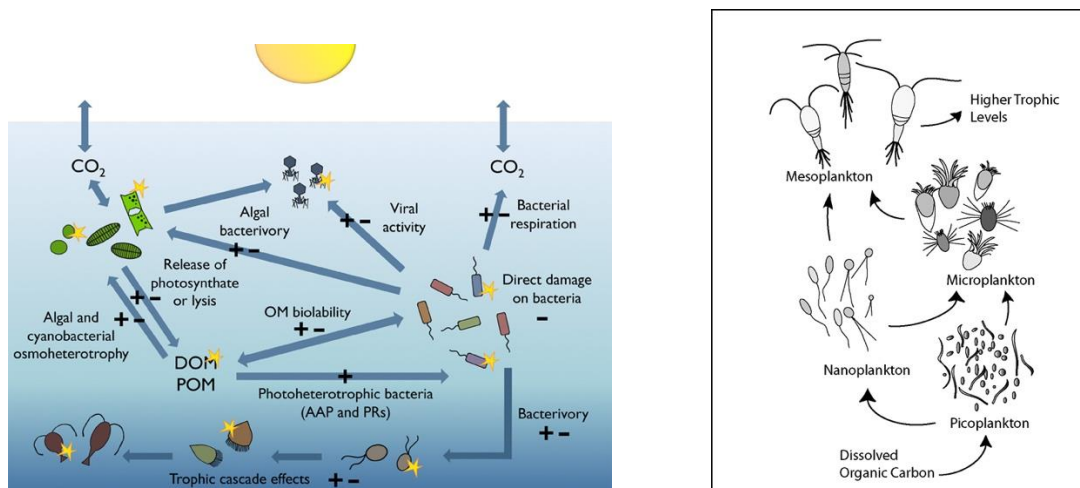
Uloga ostalih jezerskih biota u sezonskoj tranziciji je važna i uključuje:

- Kontrolu prolećnog i jesenjeg cvetanja fitoplanktona preko gljivičnih i virusnih epidemija;
- kontrola populacija fitoplanktona ispašom od strane protozoa i zooplanktona, s pojavom faze bistre vode;
- maksimum ukupnog broja bakterija koji korelira (blago van faze) sa cvetanjem fitoplanktona, u odnosu na proizvodnju i akumulaciju DOC.

Biomasa nastaje fotosintetskom aktivnošću autotrofnih organizama i naknadno se konzumira heterotrofima, prelazeći iz jedne grupe u druga u definisanom nizu trofične progresije. Procesi međusobnog povezivanja i prenosa koji su uključeni u ovaj niz imaju tri glavna nivoa složenosti (slika 5):

- **lanac ishrane** - linearni niz koji opisuje prijenos energije sa jedne populacije na drugu, tj. kada jedna populacija služi kao hrana za drugu u ovom nizu;
- **ekološka piramida** - linearni niz, u kojima su organizmi grupisani u smislu ekološke uloge i dinamike prenosa biomase; kvantifikovano i predstavljeno dijagramom ima piramidalni oblik, pa otuda i naziv;
- **trofička mreža** - prikazuje složene interakcije između određenih grupa i vrsta, često uključujući detalje prenosa biomase ili energije unutar mreže.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima



Slika 5. Mikrobni lanci ishrane, trofičke mreže i mikrobne petlje

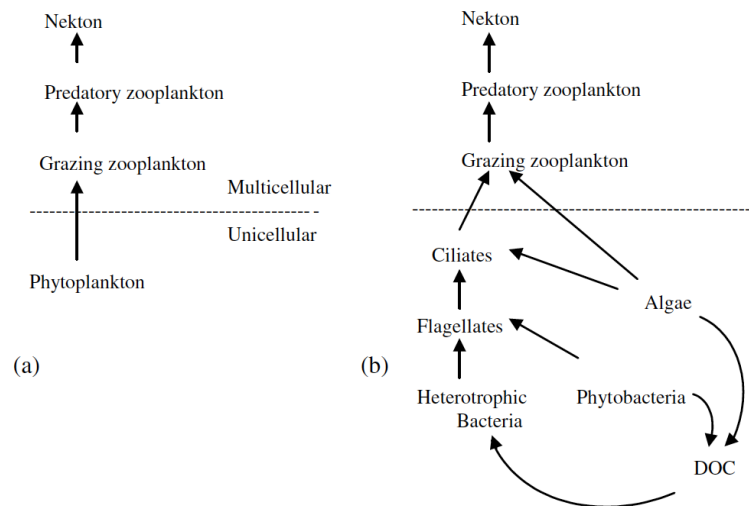
U pelagijskim sredinama, interakcija između organizama može se razmatrati u odnosu na dva glavna načina transfera biomase – glavne trofičke nizove i mikrobne petlje.

Glavni trofični ili pasući nizovi, tj. sekvence je glavni način prenosa mase u vodenoj sredini. Uključuje proizvodnju biomase od strane fotosintetskih mikroorganizama (primarni proizvođači) praćeno sukcesijom paše i ingestije. Ingestiju algi vrše biljojedi (npr. zooplankton), a zatim slede mesojedi (npr. zooplankivororni, ribojedi, tj. piscivorni) (slika 6).

Do nedavno, trofične interakcije unutar slatkovodnih sistema su podrazumevale samo ovu klasičnu sekvencu, koja uključuje organizme koji su mogli da se uhvate u planktonske mreže ili su bili jasno vidljivi kao planktonska ili bentoska biota. Ovo se sada promenilo, s obzirom na to da:

- u mnogim pelagičkim sistemima primarnu proizvodnju takođe sprovode alge koje prolaze fitoplanktonske mreže i čine glavne populacije aktivnog fotosintetskog pikoplanktona;
- pored algi je i primarnu proizvodnju vrše fotosintetske bakterije i neke praživotinje (koje sadrže simbiote);
- mnoge planktonske i bentosne alge imaju heterotrofne sposobnosti i mogu da asimiliraju kompleksna jedinjenja ugljenika pored autotrofnih aktivnosti koje obavljaju;
- primarna produktivnost se takođe kanališe u drugi glavni trofički niz koji uključuje populacije bakterijska i protozoa i u mikrobnu petlju.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima



Slika 6. Inkorporacija mikrobne petlje u klasičan pelagijski lanac ishrane: (a) klasični pelagijski lanac ishrane; (b) inkorporacija različitih mikrobnih komponenti (po Dobson i Frid, 1998)

Mikrobna petlja: Postojanje druge glavne trofične sekvence, mikrobna petlja, se realizuje kada je potvrđeno da:

- suštinski deo primarne produkcije ne ulazi u ispašu, ali se oslobađa kao rastvoreni organski ugljenik (DOC) u životnu sredinu;
- su velike populacije virusa, bakterija i praživotinja prisutne u mnogim vodenim sistemima i igraju glavnu ulogu u oslobađanju i korišćenju DOC algi.

U mikrobnoj petlji DOC koji proizvode mikroalge se preusmerava nazad na pašu kroz niz mikroorganizama. DOC se metaboliše od strane bakterija, koje se potom ingestiraju od praživotinja i manjeg zooplanktona, vodeći nazad u glavni niz. Mikrobna petlja se naročito dobro uočava u sistemu planktona, gde se stabilne populacije praživotinja, algi i bakterija mogu pojaviti pod ravnotežnim uslovima. U nekim slučajevima populacije nisu u ravnoteži, a mnoge studije su potvrdile vremenski niz mikroorganizama u takvim okolnostima, sa bakterijama koje slede posle cvetanja fitoplanktoni i praživotinje koje slede nakon bakterija.

1.7.1. Ekološke piramide

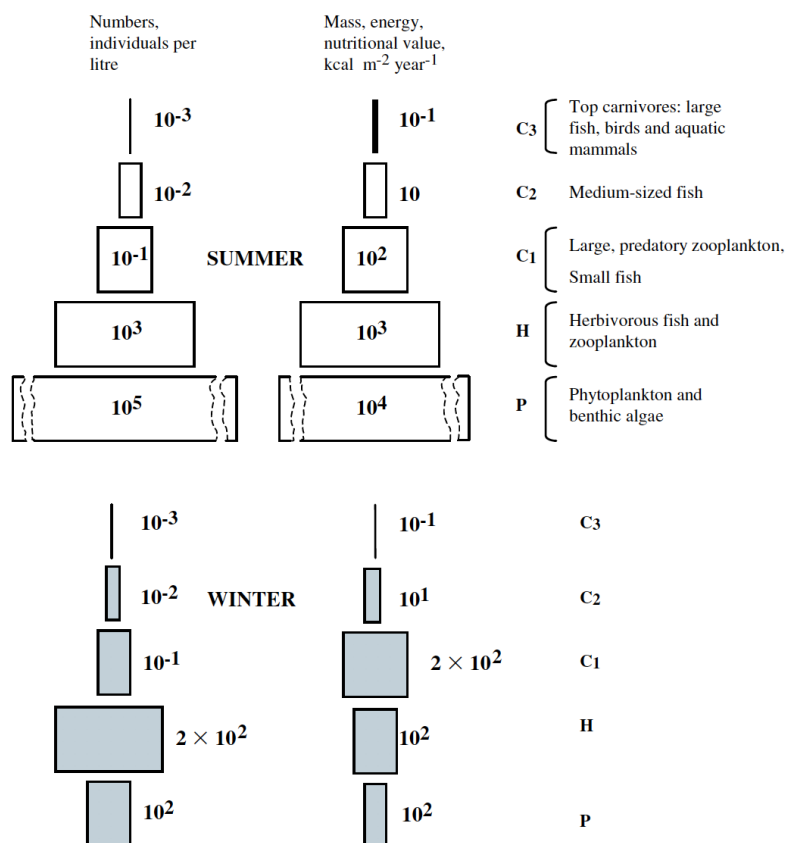
U bilo kom trenutku, biota sadržana u pelagičnoj zoni jezera može se smatrati kao stanje ravnoteže - sa ravnotežom između glavnih grupa u pogledu broja, biomase i energije. Ti međusobni odnosi predstavljeni su kao ekološke piramide (slika 7). Glavni zaključci koji slede iz ovog koncepta su sledeći:

- Letnje populacije pokazuju jasnu piramidu biomase, sa fitoplanktonom koji zauzima bazu piramide (10^8 jedinki/L) koja vodi do biljojeda (konzumenti prvog

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

reda), primarnih mesoždera (konzumenti drugog reda) i sekundarnih mesoždera (jedna jedinka na 1000L jezerske vode).

- Zimski uslovi ne dozvoljavaju aktivan rast primarnih proizvođača i ukupna piramidalna struktura se gubi. U ovo doba godine populacija primarnog proizvođača je otprilike $10^2/L$ i biljojede ribe i zooplankton su glavne populacije.



Slika 7. Ekološka piramida tipičnog pelagičnog ekosistema jezera u umerenoj zoni. Nivoi populacija za različite trofičke nivoe unutar vodenog stuba jezera su prikazani kao ukupan broj na levoj strani i biomase (takođe ekvivalentno energetske i nutritivne vrednosti) na desnoj strani. Obrasci broja populacije i biomase imaju jasan piramidalni oblik tokom letnje faze rasta (gornji dijagram), ali ne i tokom zime (donji deo dijagrama) - kada se mnogi od organizama javljaju se na sedimentu u nemetaboličkom rezistentnom stanje. Simboli za različite trofičke nivoe su: P (primarni proizvođači), H (biljojedi), C1 do C3 (mesožderi) (na osnovu Horne i Goldman, 1994)

Klasični koncept ekološke piramide zasniva se na rastu primarnog proizvođača, sa sukcesijom zavisnih grupa primarnih i sekundarni potrošača. Nedostaci ovakvog koncepta su sledeći:

- Organizmi se smatraju ili proizvođačima ili potrošačima. Nedavne studije pokazale su da to nije slučaj sa velikim brojem grupa algi, gde organizmi mogu u određenim uslovima biti ili kao autotrofi ili kao heterotrofi.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

- Klasična ekološka piramida uzima u obzir samo glavni trofički niz i zanemaruje mikrobnu petlju. Značajna količina primarne produkcije je preusmerena na proizvodnju rastvorenog organskog ugljenika (DOC), a zatim se preusmerava na mikrobnu zajednicu preko petlje koja podržava veliku populaciju heterotrofnih bakterija i praživotinja.

Prikazani dijagram (slika 8) uključuje pet glavnih grupa mikroorganizama - viruse, gljivice, bakterije, protozoe i alge – i ponovo ukazuje na razliku između glavnog trofičnog niza (ingestija) i mikrobne petlje. Rastvoreni organski ugljenik (DOC) igra ključnu ulogu u povezivanju produktivnosti fitoplanktona i zooplanktona za bakterije, a takođe povezuje pelagični ekosistem sa spoljašnjim okruženjem putem egzogenog DOC.

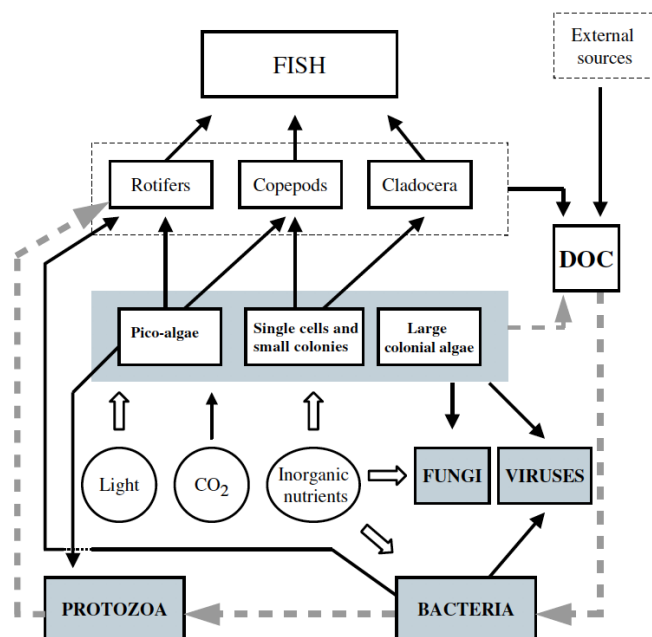
Glavna trofička sekvenca uključuje unos energije (svetlosti), CO₂ i neorganskih hranljivih sastojaka u populaciju fitoplanktona, koji se može razdvojiti u nekoliko podgrupa. Oni se dalje konzumiraju od strane praživotinja i različitog zooplanktona, koje zatim konzumiraju zooplanktivorne ribe - i na kraju predatorske ribe i ostali kičmenjaci kao vrhunski predatori.

Trofičke mreže su veoma složene i podrazumevaju višestruke veze - troše se, na primer, pikoalge od strane praživotinja, rotifere i kopepoda, a činjenica je da protozoe imaju ključnu ulogu u oba glavna trofična niza i u mikrobnoj petlji. Međusobne veze između različitih grupa podrazumeva kaskadu organizama, i ova trofička mreža ponekad se naziva i „trofična kaskada“. Još jedan važan aspekt koji se pojavljuje u ovim dijagramima je pitanje kontrole produktivnosti fitoplanktona i zooplanktona.

Obrasci ingestije i prenosa biomase ingestijam (tj. organizmi koji jedu) u okviru vodenih trofičkih mreža mogu se odrediti analizom sadržaja creva, mada se ingestirani organizmi mekog tela mogu delimično svariti već u početnim delovima crevnog trakta i ne mogu se identifikovati. U većini slučajeva interakcije u trofičkim mrežama takođe se mogu utvrditi na osnovu poznate veze grabljivac-plen. Takođe se mogu koristiti rentgenske mikroanalize za otkrivanje silicijuma u grupama zooplanktona koje se hrane dijatomejama, a mogu se koristiti i radiaktivni izotopi.

Trofički biomarkeri. Koncept trofičkog biomarkera zasniva na kruženju jedinjenja koje prelaze iz jednog organizma u drugi, i ugrađuju su bez ikakvih hemijskih promena. Ovo se posebno koristi u smislu lipidnog sastava, gde profili masnih kiselina od primarnih proizvođača, biljojeda i mesojeda otkrivaju korisne informacije o trofičkim odnosima.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

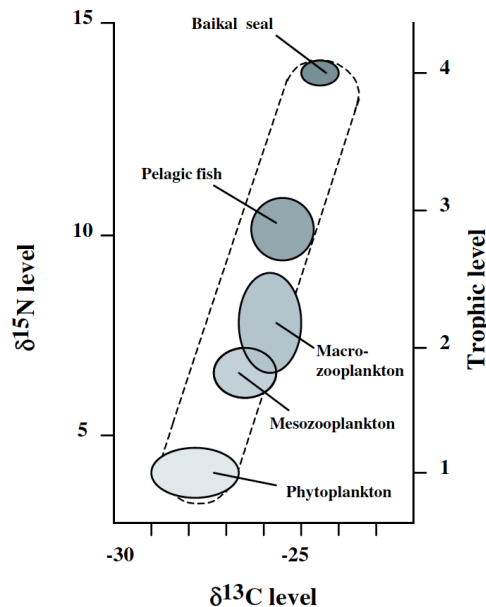


Slika 8. Pojednostavljena šema (generalizovana mreža ishrane) za trofičke interakcije u pelagičnom slatkovodnom sistemu. Mikroorganizmi su označeni osenčenim pravougaonicima. Pune strelice pokazuju smer protoka ugljenika, uključujući glavnu trofičnu sekvencu (crne strelice) i mikrobnu petlju (sive isprekidane strelice). Protok ugljenika iz praživotinja deo je glavne sekvence (ingestija piko-algi), a takođe i mikrobna petlja (ingestija bakterija). Redosled organizama (pojedinačno ili u grupama) od vrhunskog mesojeda (riba) do primarnih proizvođača (alge) se nazivaju trofična kaskada. Zooplankton predstavljen je sa tri glavne grupe (rotifere, kopepode i kladocere), a fitoplankton pikoalgama, malim kolonijalnim i jednoćelijskim mikroalgama i velikim kolonijalnim formama. DOC je rastvoreni organski ugljenik.

Analiza stabilnih izotopa. Unos stabilnog ugljenika i izotopa azota od strane primarnih potrošača, i selektivno zadržavanje tokom prenosa biomase, obezbeđuje korisne informacije o obrascima ingestije u trofičkoj mreži vode. Analiza izotopa ugljenika i azota u Bajkalskom jezeru (Rusija) pokazuje da pelagična trofička mreža ima izotopski uređenu strukturu, gde su koncentracije ^{13}C i ^{15}N unutar pojedinih vrsta pokazale dobro definisane trofičke nivoe (slika 9). Konkretno nivoi ^{15}N imali su jasan trend postepenog obogaćivanja od primarnih proizvođača do zooplanktona, pelagičnih riba i krupnijih slatkovodnih kičmenjaka. Tehnika se takođe može koristiti za demonstraciju promena u dinamici trofičke mreže koje se javljaju usled eutrofizacije. U plitkom Grenlandskom jezeru, prelaz od bentosne do pelagične primarne proizvodnje, podudara se sa promenom u trofičkim navikama primarnih potrošača. Upotreba stabilnog izotopa ugljenika je moguća jer fitoplankton diskriminiše ^{13}C više od bentosnih algi (perifiton), a potrošači čuvaju ove razlike. Tokom procesa eutrofizacije, ^{13}C sadržaj bentoških organizama koji se hrane ispašom (amfipode, izopode i puževi koji se hrane bentosnim algama) menjaju se od bentosnih organizama koji se hrane filtracijom (školjke i hironomide koje se hrane

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

fitoplanktonom). Ovaj prelaz ^{13}C organizama koji pasu rezultat je smanjenja u dostupnosti perifitona i povećanju biomase fitoplanktona, koja se taloži u sedimentu.



Slika 9. Stabilni izotopski prelazi u pelagijalnoj trofičkoj mreži Bajkalskog jezera (Rusija). Nivoi dva stabilna izotopa (^{15}N i ^{13}C) su prikazani u okviru pojedinačnih vrsta na četiri trofična nivoa: (1) Fitoplankton: *Aulacoseira*; (2) Zooplankton: *Epischura* (mezo-) i *Macrohectopus* (makro-); (3) Pelagična riba: *Coregonus*; (4) Slatkovodni pečat: *Phoca*. Nivoi izotopa su izraženi kao proizvoljne jedinice prema nebiološkim standardima i prikazani su kao površina oko srednje vrednosti (+ jedna standardna devijacija) (na osnovu Ioshii i sar., 1999)

Tok organske materije u trofičkoj mreži uključuje ingestiju, razgradnju i sintezu nove biomase. Tokom prelaska iz jednog organizma u drugi postoje progresivne promene u hemijskom sastavu biomase (npr. promene u sadržaju izotopa) i takođe gubitak potencijalne energije (biomasa) usled neefikasnosti u proces konverzije i respiratorne razgradnje nekog od ingestiranog materijala.

1.8. Homeostaza i stabilnost ekosistema

Održavanje ravnoteže unutrašnjeg okruženja (homeostaza) je važno svojstvo svih ekosistema, a posebno se dobro vidi u pelagičnom okruženju. U praktičnom smislu, homeostaza uključuje sposobnost sistema da prevaziđe kratkotrajne fizičke, hemijske i biološke poremećaje koji se javljaju u spoljašnjoj sredini (npr. ozbiljne klimatske promene, priliv zagađivača) ili nastaju iznutra (npr. slučajni porast mikrobne populacije). Homeostaza deluje na obnavljanje ekološke ravnoteže koja se javlja između biota i za održavanje biodiverziteta ekosistema.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Pored značaja u prirodnim uslovima, homeostaza ima ključnu ulogu u odgovor zajednice na obogaćivanje hranljivih sastojaka posredstvom čoveka (eutrofizacija). Štetni uticaji na životnu sredinu, koji su rezultat eutrofizacije, rezultiraju poremećajem homeostaze ekosistema i oporavak zahteva obnavljanje ravnoteže zajednica i ponovo uspostavljanje ravnoteže.

Interakcije sa spoljnim okruženjem imaju ključni efekat na oba dela pelagičnih ekosistema, koji utiče na obe zajednice organizama i stanište koje zauzimaju. Ove interakcije imaju poseban značaj za jezerski pelagični ekosistem:

- Velika površina pelagičnog sistema je direktno izložena atmosferi, pa na nju utiču spoljne fizičko-hemijske promene.
- Pelagični ekosistem je glavno područje u jezeru gde prodire svetlost i stvara se biomasa posredstvom fotosinteze (primarna produkcija). Pelagični sistem deluje kao izvor biomase za bentosne i litoralne mikrosisteme gde je bakterijski biofilm.
- Spoljne promene dovode do sezonskog raslojavanja (i naknadne de-stratifikacije) pelagijske sredine, sa velikim uticajem na biologiju jezerskih organizama.

Tokom dana, prodor svetlosti u pelagično okruženje se neprekidno menja, sa odgovarajućim promenama u odgovoru ćelija fitoplanktona. Te promene uključuju aktiviranje gena koji reaguju na svetlost i promene u stopi fotosinteze. Dugoročne promene nivoa svetlosti su takođe važne, posebno u odnosu na sezonske promene i diurnalnu periodičnost.

Sezonske promene. Uticaj spoljnih efekata naročito se jasno vidi u sezonskim promenama u jezeru, gde promene na površini, kao što su svetlost, temperatura i vetar pokreću početak prolećnog cvetanja dijatomeja, uzrokuju raslojavanje vodenog stuba i promovišu niz promena u fitoplanktonu i kod drugih jezerskih organizama.

Dnevna periodičnost. Pored sezonskih efekata, postoje i dnevne promene aktivnosti fitoplanktona. Oni uključuju vertikalnu migraciju fitoplanktona, fiziološke procese (fotosintetska aktivnost, fiksiranje azota) i transkripciju gena. Druge biote, poput zooplanktona su takođe direktno pogođene dnevnim promenama intenziteta svetlosti, a dnevna periodičnost unapređuje vertikalnu migraciju ovih organizama i njihovu interakciju sa fitoplanktonom. To uključuje vreme i položaj (unutar vodenog stuba) ispaše fitoplanktona od strane zooplanktona i reciklažu fosfora od zooplanktona do fitoplanktona.

Dinamika hidrologije jezera takođe može da deluje kao važan spoljni faktor na pelagični ekosistem, sa prilivom i odlivom vodenih biota, čestica i rastvorljivih hranljivih sastojaka. Pred kraj sezone rasta, na primer, priliv može biti posebno važan u snabdevanju

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

rastvorljivom neorganskom hranljivom materijom sistema osiromašenog hranljivim sastojcima, dok odliv biote kao što su planktonske alge može uticati na cvetanje. Gubitak i regrutovanje biota može se desiti i preko površine jezera. Čini se da ovo nije bilo dokumentovano za jezerske mikroorganizme, ali jeste za insekte poput komaraca i hironomida, koji preko jaja i stadijuma vodenih larvi, napuštaju ekosistem nakon metamorfoze kao imago.

Svi biološki sistemi imaju mehanizme zaštite od nepovoljnih promena životne sredine, koje mogu oštetiti funkciju. Ovi faktori se označavaju kao „stresni faktori“ i mogu da deluju na nivou ekosistema, pojedinih organizama (npr. fiziološki uticaj jakog osvetljenja) i na molekularne sisteme. Prokarioti odgovaraju na fizičko-hemijske stresove kao što je salinitet, visoka temperatura, akutni nedostatak hranljivih sastojaka itd. što dovodi do indukcije posebnih faktora transkripcije (sigma faktori) koji su odgovorni za ekspresije niza gena povezanih sa stresom. Ekosistemi su često podložni spoljnim ili unutrašnjim uticajima životne sredine koji teže da uzrokuju promene u biološkoj zajednici. Ovi efekti se mogu definisati kao „stres okoline“ kada narušavaju strukturu ili funkciju trofičkih mreža i drugih dinamičkih aspekata bioloških sistem.

Primeri spoljnih stresova koji utiču na vodene sredine uključuju promene životne sredine (poplave, promena namene zemljišta), klimatske promene (suše, temperatura, poremećaj vetra), lokalne fizičke parametre (brzina toka vode) i hemijske efekte (toksični zagađivači, povećanje hranljive materije). Biološki poremećaji, kao što je uvođenje novih vrsta, takođe može biti važan faktor stresa. Ekologija mnogih jezera podrazumeva unošenje i širenje alohtonih biljaka, npr. u jezerima Velike Britanije ima biljaka sa Novog Zelanda. Prvobitno su introdukovane kao biljke za ribnjake, a lako su kolonizovale druge slatkovodne sredine, potisnule autohtone biljke i smanjile diverzitet staništa.

Postoje razni primeri efekta spoljašnjeg stresa na vodene mikrobne zajednice. Npr. brzina toka vode je važan parametra u lotičkim sistemima, jer utiče i na razvoj zajednice biofilma.

Drugi primer je efekat brzine toka otpadnih voda u aktivnom mulju (kanalizacija). Pri velikim brzinama toka protozoe su ograničene na one vrste koje se brzo reprodukuju, sa svim osobinama tipičnim za r-strateške organizme. U jezerima i ostalim stajaćim vodama, priliv neorganskih hranljivih sastojaka takođe predstavlja faktor stresa, što dovodi do eutrofizacije i narušavanja homeostaze ekosistema.

Faktori stresa koji se razvijaju unutar vodenih područja takođe mogu biti važna. U nekim slučajevima ovi unutrašnji stresovi su sekundarni efekti spoljnih stresnih faktora, kao što je cvetanje cijanobakterija usled eutrofizacije. Drugi primer unutrašnjeg stresa koji mogu proizaći iz spoljnih faktora su indukcija anoksičnih stanja usled prenamnožavanja bakterija, a što se razvija kao odgovor na organsko zagađenje. Ovo ima važan uticaj na sastav i aktivnost zajednice protozoa.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

U drugim slučajevima, unutrašnji faktori stresa nisu direktno povezani sa spoljnim faktorima. U jezerima, mogu se javiti kao deo sezonskog ciklusa – i uključuju značajan porast aktivnosti ispaše zooplanktona koja se javlja tokom faze u kojoj je voda bistra, a koja ima veliki uticaj na populaciju fitoplanktona. Tokom kasnog leta cvetanje cijanobakterija takođe može da uzrokuje stres u ekosistemu, utičući na rast drugih algi i u nekim slučajevima ograničava razvoj zooplanktona.

U slučaju delovanja spolašnjeg stresa očekuju se brojni odgovori u zajednicama ekosistema, koji podrazumevaju odgovore pojedinačnih zajednica (biofilm, plankton). Promene se javljaju u energetici, kruženju nutrijenata, strukturi zajednice itd. (tabela 11).

Tabela 11 Odgovor na stres u vodenom sistemu: P – energija za produkciju biomase; R – respiracija; B – biomasa (Odum, 1985)

Energetika	Kruženje nutrijenata
Povećanje disanja zajednice	Promet nutrijenata se povećava
P/R postaje nestabilan	Raste horizontalni transport
R/B odnos raste	Opada vertikalno kruženje nutrijenata
Značaj porasta pomoćne energije	Povećava se gubitak nutrijenata
Povećava se neiskorišćenost primarne produkcije	
Struktura zajednice	Opšti trend sistema
Raste proporcija r-stratega	Ekosistem postaje otvoreniji
Raste veličina organizama	Preokretanje autogene sukcesije trendova
Skraćuje se životni vek	Smanjuje se efikasnost korišćenja resursa
Skraćuju se lanci ishrane	Raste parazitizam
Opada diverzitet vrsta; raste dominacija	

Energetika. Energetske promene bi se očekivale kao rani odgovor na spoljni stres, sa porastom respiracije (R) kao odgovorom na promene. Hemijska energija unutar sistema usmerena je od proizvodnje biomase (produkcija P) ka disanju, odnos P/R odnos postaje neuravnotežen i povećava se. Odliv energije unutar sistema znači da je pomoćna energija (spolja) postaje sve više važna za nastavak opstanka. Ovaj poremećaj takođe rezultuje manje efikasnom upotrebom produkata primarne proizvodnje, sa povećanjem neiskorišćenih resursa.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Kruženje nutrijenata. Povećan promet hranljivih materija i smanjeno kruženje nutrijenata se često pojavljuje u ekosistemima koji su pod stresom. Smanjeno kruženje hranljivih sastojaka rezultira promjenama u strukturi zajednice, sa povećanim horizontalnim kruženjem nutrijenata, ali smanjenim vertikalnim.

Struktura zajednice. Pod stresnim uslovima, očekivali bismo porast vrsta koje su sposobne da brzo rastu i koriste privremene prednosti. Takvi oportunistički organizmi (r-selekcija) obično imaju malu veličinu i kratak životni vek. Ometanje trofičkih mreža takođe rezultira skraćivanjem lanaca ishrane i smanjuje se raznolikost vrsta sa dominacijom manjeg broja vrsta.

Opšti trendovi na nivou sistema. Pod stresnim uslovima, ekosistemi teže da postanu otvoreniji i postojeće (autogene) sukcesione promene postaju obrnute. Efikasnost korišćenja resursa se smanjuje zbog neiskorišćene primarne proizvodnje i povećanog gubitka hranljivih sastojaka. Kako su organizmi pod fiziološkim stresom, postaju podložni parazitskim infekcijama.

Uočeni odgovori na stres kreću se od molekularnih događaja (npr. lagana inaktivacija proteina), preko promene fiziologije, ravnoteže populacije (selektivni mortalitet), ekološke dinamike do promene sastava zajednice (smanjen diverzitet).

Stres može da utiče i na smanjenje veličine jezerskih biota, tj. opšti pad veličina u nizu jezerskih biota (dijatomeje, kladocere), što je slučaj sa hroničnim zagađenjem metalima. Ispitivanje pH pokazalo je korelaciju smanjenja pH sa smanjenjem složenosti trofičke mreže i raznolikosti vrsta.

Sposobnost ekosistema da se odupre stresu i da se vrati u prethodno stanje ili da se ono održi je primer opšteg principa **homeostaze**. U ekosistemima, unutrašnje okruženje obuhvata biološke, hemijske i fizičke karakteristike sistema - sa posebnim naglaskom na sastav vrsta i dinamičke interakcije organizama.

Bez obzira na vrstu stresa, što je veća stabilnost, to je sistem sposobniji da se odupre spoljnim promjenama. Iako su koncepti homeostaze bolje proučeni u terestričnim ekosistemima, mnogi principi mogu da se primene i na vodenim sistemima. Stabilnost ekosistema zavisi od više faktora:

- **Sastav vrsta.** Stabilni sistemi pokazuju postojanost u ukupnom broju vrsta ili relativnu proporciju pojedinih vrsta pod stresom. Ovo je definisano kao „stabilnost bez oscilacija“, a podrazumeva predvidljivost i kontinuitet sastava vrsta unutar ekosistema.
- **Biodiverzitet i složenost trofičke mreže.** Opšteprihvaćeno je da je stabilnost ekosistema delimično u funkciji trofičke strukture i ukupne raznolikosti trofičkih mreža. Ova raznolikost trofičkih veza znači da su oscilacije unutar ekosistema

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

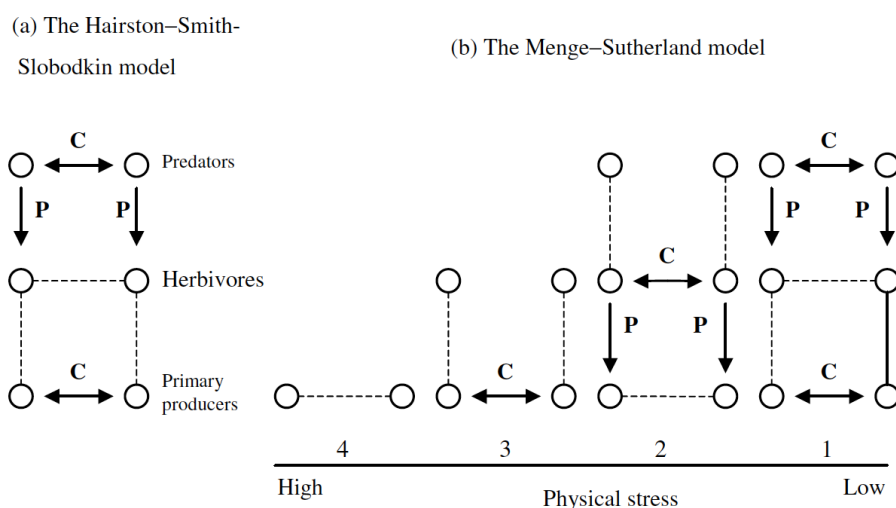
zmanjene i da postoji povećana otpornost na spoljašnje uticaje. Utvrđen je direktni kvantitativni odnos između stabilnosti ekosistema i broja veza u trofičkim mrežama; veliki broj interaktivnih veza u ishrani omogućava širok spektar prilagođavanja uslovima stresa, a takođe pruža alternativne kanale za protok energije.

- **Sposobnost sistema da održi (ili se vrati u) prvobitno stanje pod spoljnim stresom.** Ovo svojstvo se naziva „otpor stabilnosti“ i posebno je važno kada se razmatra uticaj cvetanja cijanobakterija na jezerski ekosistem.

Neka slatkovodna tela su se veoma razvila u stabilne ekosisteme sa visokim nivoom biodiverziteta. Ovo je naročito slučaj sa drevnim jezerima kao što su Bajkalsko jezero (Rusija), gde se raznoliki skup vrsta razvio u relativno stabilnom okruženju tokom dužeg vremenskog perioda.

Kompeticija u slatkovodnim ekosistemima se javlja uglavnom između primarnih proizvođača (za prostor, hranljive materije, svetlost) i između predatora (takmičenje za ograničeni resurs hrane). Biljojedi nisu u stanju da ograniče rast primarnih proizvođača i predstavljaju izvor hrane za predatore (slika 10).

Slatkovodni ekosistemi se često razlikuju od kopnenih u većem fizičkom poremećaju i većoj fizičkoj heterogenosti. Ovi sistemi više se odnose na razvijeni model strukture zajednice gde različiti nivoi fizičkog stresa (poremećaja) uzrokuju velike promene u kompeticiji i predaciji. Najviši nivoi stresa (kontinuirani poremećaj) ne dozvoljavaju da se uspostavi bilo koja vrsta, ali kako se smanjuje stres, zajednica postaje složenija. Varijacije nivoa stresa i strukture zajednice može se videti i u lotičkom i u lentičkom vodenom sistemu.



Slika 10. Alternativni modeli strukture zajednice koji pokazuju interakcije između glavnih grupa vodenih organizama pod različitim uslovima fizičkog stresa: (a) u modelu Hairston – Smith – Solobodkin, predator i populacije primarnih proizvođača kontroliše

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

kompeticija, ali biljojede kontrolišu predatori; (b) u Menge – Sutherlandov model, struktura zajednice varira u zavisnosti od nivoa stresa. Sa porastom stresa (nivo 1 do nivoa 4), struktura zajednice postaje jednostavnija i prelazi sa Hairston modela na situacije u kojima postoji progresivno smanjenje efekta predatora (nivo 2), zatim biljojeda (nivo 3). (slika adaptirana iz Dobson i Frid, 1998, na osnovu Hairston et al., 1960 i Menge i Sutherland, 1987)

Turbulencija vode u rekama koje se brzo kreću pruža dobar primer sredine sa visokim stresom. U ovoj situaciji, nevezani organizmi kao što su beskičmenjaci i mikroorganizmi koji se slobodno kreću nisu u stanju da se učvrste za podlogu i vodena struja ih nosi. Samo vezani mikroorganizmi koji formiraju zajednice perifitona i biofilme ostaju u takvim uslovima, sa različitim stepenima kompeticije između organizama koji kolonizuju površine. Čak i ove povezane zajednice mogu biti ograničene stresom iz okoline. U vrlo poremećenim ekosistemima kao što su vodotoci, sukcesija algi može pokazati malo napredovanje osim kolonizacije izloženih površina dijatomejama.

Na mikrobiologiju jezera utiču faktori stresa i u prirodnim i u neprirodnim situacijama. Pod prirodnim uslovima, razlike u strukturi zajednice i nivoi stresa se vide tokom sezonskog ciklusa. Visok nivo stresa javljaju se tokom faze čiste vode, gde je konkurencija između biljojeda (zooplanktona) visoka, a populacije fitoplanktona su male i pokazuju brze promene. Samo brzo rastuće alge (r-selekcija) su u stanju da prežive nepovoljne uslove u ovim momentima. Suprotno tome, letnji period cvetanja obično je faza minimalnog nivoa stresa, gde je pritisak paše zooplanktona smanjen i javlja se visoki nivoi konkurencije između utvrđenih populacija različitih vrsta fitoplanktona. Primer izazvanog stresa javlja se tamo gde su jezera izložena velikom zagađenju hranljivim sastojcima (eutrofizacija) kao rezultat ljudskih aktivnosti. Rast cijanobakterija rezultira supresijom biljojeda (zooplanktona) i predatora (ribe), uz jaku konkurenciju u okviru fitoplanktonske zajednice koja vodi ka dominaciji cijanobakterija.

Različite vrste i stepeni stresa rezultiraju različitim odgovorima zajednice. Ovi odgovori mogu se koristiti za procenu izvora, vrste i uticaja stresa na određeni vodeni sistem i određuju „potpis biološkog odgovora“. Potpis biološkog odgovora se može definisati kao uočljivi obrazac u odgovoru vodenih zajednica, dozvoljavajući diskriminaciju između različitih vrsta stresa.

Istraživanja na rekama i potocima u Ohaju (SAD) su mogla da razdvoje različite uticaje na devet kategorija poremećaja (toksične materije, ispuštanje kanalizacije itd).

Upotreba bioloških potpisa obično zahteva široku procenu vodene zajednice, pre nego posmatranje pojedinačnih „vrsta indikatora.“ Ova procena uključuje određivanje indeksa zajednice koji koristi više grupa indikatora, detaljnu taksonomsku rezoluciju i standardizovanu proceduru uzorkovanja. Većina programa biološke procene koriste makroskopske indikatore kao što su ribe, beskičmenjaci i više biljke. Međutim, postoji

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

mogućnost i korišćenja mikrobne zajednice - uključujući dijatomeje bentosa, za procenu uticaja hranljivih sastojaka na tekuće vode i fitoplanktonske zajednice da se proceni eutrofizacija stajaćih voda.

1.8.1. Trofičke mreže u lotičkim i lentičkim sistemima

Ekosistemi stajaćih (lentičke) i tekućih voda (lotički) pokazuju brojne važne razlike. Oni odražavaju razlike u biotama (npr. relativni udeo pelagičnih i bentosnih organizama), životnoj sredini (npr. odsustvo i prisustvo kretanja vode), ulazu spoljnih (alohtonih) materija u vodeni sistem i sl.

Generalizovana pelagična trofička mreža pokazuje veoma složene odnose kada su u pitanju individualne vrste, gde svaka pokazuje više veza sa drugim vrstama. Iz tog razloga istraživanja koja uključuju trofičke mreže imaju tendenciju da se fokusiraju na određene aspekte jezerskog ekosistema, kao što su određene grupe biota (npr. izuzimajući glavne mikrobiološke komponenta), pojedine delove jezera (npr. pelagični ekosistem) ili određene vremenske sekvence (npr. tokom određenog cvetanja algi).

Ova dva različita pristupa ilustriraće studije slučaja iz jezerskih ekosistema – prolazne mikrobne trofičke mreže povezane sa prolećnim cvetanjem algi i prisutna je generalizovana godišnja trofička mreža unutar vodenog stuba oligotrofnog jezera

1.8.1.1. (Bajkalsko jezero, Rusija).

Prilikom cvetanja vode jezera, uočene su promene tri glavna aspekta: prenamnožavanje planktona, uticaj na klasičnu pelagijsku trofičku mrežu i mikrobnu petlju. Tokom leta, stratifikacija i povećanje temperature vode dovodi do prenamnožavanja picocijanobakterija, ali i nekih algi (dijatomeja - *Stephanodiscus hantzschii*, zelenih algi - *Chlorella* sp. i dr. Koncentracija hlorofila dostiže maksimum do kraja aprila ($>40 \mu\text{g/L}$), a zatim opada. Iz vode se uklanja azot, fosfor i silicijum, što ograničava dalji rast fotosintetskog planktona. Porast odnosa N/P ukazuje na nedostatak fosfora i cvetanje vode. Oko 30% stvorene organske materije se koristi na respiraciju, 15% pada na dno, 28% koristi zooplankton i protozoe, a ostatak odlazi u mikrobnu petlju. Ingestiju fitoplanktona vrše tri glavne grupe organizama - cilijatne praživotinje (naročito oligotriha *Strombidium* i *Strobilidium*), mikrozooplanktona (larve kopepoda Nauplius, rotifere) i makrozooplankton (uglavnom kopepode). Porast broja cilijatnih protozoa pred kraj cvetanja je delom usled ingestije algi, a delom usled ingestije heterotrofnih nanoflagelata kao dela mikrobne petlje. Uloga heterotrofnih bakterija i protozoa u potrošnji i reciklaži biomase algi je važna u prenošenju ugljenika tokom prolećnog cvetanja fitoplanktona jezera: preko 26 % ugljenika fitoplanktona u obliku čestica se troši u mikrobnoj petlji, pored asimilacije eksudata algi od strane bakterija. Sve zajedno, ove heterotrofne

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

aktivnosti planktonskih bakterija doprinose sa više od 50 % neto primarne proizvodnje. Bakterijska biomasa je najveća biomasa od svih heterotrofnih organizama i predstavlja oko 20 % biomase algi. Dinamika bakterijskih populacija pokazuje značajan porast tokom cvetanja. Ovo povećanje broja bakterija je u skladu sa prenosom mase sa jedne populacije na drugu. Unutar mikrobne petlje, bakterije se ingestiraju od strane malih bezbojnih nefotosintetičkih bičara (heterotrofni nanoflagelati ili HNF), umesto cilijatnih protozoa. Iako postoji značajan fluks ugljenika u populacije HNF, oni pokazuju mali porast zbog njihove intenzivne ingestije cilijatnim praživotinjama.

U sistemima stajaćih voda (lentičke) dominira fitoplankton i ugljenik ulazi u lance ishrane uglavnom interno (autohtono poreklo) preko fotosinteze. Nasuprot ovome, u tekućim vodama dominiraju pripojeni (bentosni) organizmi i ulazak ugljenika je uglavnom iz spoljnih izvora (alohtono poreklo). Kao rezultat ovih razlika, lentički sistemi često imaju neto autotrofiju, dok lotički sistemi tipično pokazuju neto heterotrofiju. Na mikrobnom nivou, zajednice biofilma su posebno važne u rekama i potocima, i dominiraju ili bakterije ili alge (perifiton) - u zavisnosti od faze razvoja i lokacije.

Iako postoji određena produkcija autohtonog ugljenika od strane rečnog fitoplanktona (bentosne alge i više biljke) većina ugljenika u potocima dolazi iz slivnog područja ili plavnih ravnica. Zavisnost tekućih voda od alohtonih izvora ugljenika uključuje ulazak rastvorenog organskog ugljenika (DOC) i čestica organskog ugljenika (POC) u vodeni sistem, što se ogleda u promenama koncentracije ove komponente tokom sezonskog rečnog ciklusa.

Količina i karakteristike DOC-a koji ulazi u potoke kontrolišu biotički (vegetacija, ljudska aktivnost) i fizičko-hemijski faktori (geochemija, hidrologija) slivnog područja. Hidrološke karakteristike, kao što su protok, put i vreme zadržavanja vode u horizontima tla (razlikuju se u sadržaju i kapacitetu sorpcije organske materije) su od posebnog značaja. Molekularni sastav DOC-a u potocima je raznolik, uključujući i visoko stabilne i brzo promenljive, nestabilne (labilne) materije. Samo deo ovih stabilnih organskih materija mogu biti ragrađene od strane bakterija (<1 %), npr. huminske kiseline i DOC visoke molekularne težine, ali znatno više se razgrađuju labilna jedinjenja DOC manje molekulske mase (> 50 %), posebno ljudskog porekla. Studije o elementarnom sastavu DOC-a u odnosu na bioraspoloživost sugerišu da atomski odnosi H / C i O / C u DOC može da se koristi da predvidi sposobnost bakterija da razgrađuju ova jedinjenja. Posebno je odnos H/C direktno proporcionalan lako razgradivim alifatskim jedinjenjima i obrnuto proporcionalan manje razgradivim aromatičnim materijama. Zbog varijacije u bioraspoloživosti DOC, količina unosa DOC-a u sistem ne podržava direktno i rast bakterija.

Čestične organske materije (prečnik > 0,2 mm) kreću se od fino usitnjenog materijala (uključujući bakterije) do velikih čestica poput lišća, stelje i drugih biljnih ostataka. Veliki

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

deo ovog materijala se direktno taloži u tekućoj vodi sa okolne vegetacije. Velike čestice kao što je opalo lišće su važan izvor ugljenika za mikrobnu trofičku mrežu koja služi kao supstrat za gljivice i rast bakterija i kao izvor DOC. Lišće koje dospeva u potok ili reku, prvo oslobađa malu količinu dostupnog ugljenika koji se brzo oslobađa sa površine, a nakon toga sledi sporo oslobađanje DOC-a posredovano degradacijom od strane mikroba. Raspad i oslobađanje organskog materijala iz stelje ubrzava se ishranom beskičmenjaka.

Koncentracije rastvorenog i čestičnog ugljenika pokazuju široke fluktuacije u mnogim potocima i rekama tokom godišnjeg ciklusa, sa zabeleženim vrednostima DOC uglavnom u opsegu 1–10 mg/L, ali dostižući mnogo više nivoe u nekim rekama. U većini slučajeva, input alohtonog ugljenika u rečni sistem pokazuje godišnje i sezonske varijacije.

Na primer, velike reke južne Azije, imaju značajne promene u koncentraciji DOC, sa sezonskim promenama maksimuma i minimuma. Nivoi rastvorenog organskog ugljenika u rekama Ind i Gang – Brahmaputra dostižu maksimum pred kraj porasta nivoa vode, zbog prelivanja i plavljenja visokoproduktivnih ravnica. Nivo DOC tada brzo opada kako se nivo vode smanjuje usled mešanja, metaboličkog uklanjanja i razblaživanja. U gornjem toku reke Misisipi (SAD), vrlo visoki jesenji alohtoni nivoi DOC nisu poreklom od zemljišta već od lišća.

Iako mnoge reke pokazuju povišene alohtone koncentracije DOC u vreme poplave i spiranja tla, mogu se javiti velike razlike u sezonskim obrascima. Reka Shetucket (SAD) na primer, pokazuje minimalne nivoe DOC tokom visokog protoka u zimskim mesecima, a maksimalni nivoi se javlja tokom niskog protoka u letnjem periodu. Letnji maksimum pripisivan je stvaranju autohtonog ugljenika lučenjem i odumiranjem bentosnih algi. Zimi alohtoni DOC se razblažuje visokim pražnjenjem usled topljenja leda i jake kiše. Sezonski obrasci u nekim rekama su delimično posledica *in situ* planktonske primarne proizvodnje. U reci Gambija (zapadna Afrika), alohtona koncentracija DOC dostiže maksimum u vreme maksimalnog ulivanja u sistem, ali akumulacija autohtonog DOC javlja se tokom perioda niskog protoka. Ovo je povezano sa proizvodnjom od strane fitoplanktona i sa povišenim pH rečne vode.

1.8.2. Pelagijalne i bentosne zajednice lotičkih sistema

Lotički sistemi se znatno razlikuju po obimu do kojeg se pelagične i bentosne zajednice mogu razviti. Ovo naročito zavisi od veličine i protoka, sa glavnom razlikom između velikih, usporenih tokova reke i malih, uzburanih potoka (tabela 12).

- Velike reke: U većini lotičkih sistema, fitoplankton se konstatno odnošen strujom i nije u stanju da formira „stojeće” populacije. Zbog ovog kontinuiranog premeštanja, neto proizvodnja u okviru definisanog dela vodotoka može nastati

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

samo kada lokalna stopa rasta bude veća od nizvodnih gubitaka. Rast fitoplanktona u ovom sistemu ima tendenciju da bude ograničen intenzitetom svetlosti, zamućenošću i cirkulacijom unutar vodenog stuba (bez raslojavanja), dok su nizvodni gubici uglavnom funkcija brzine toka. Proizvodnja fitoplanktona u rečnim sistemima, i razvoj pelagične zajednice, je tako u velikoj meri regulisan dostupnošću svetlosti u kombinaciji sa hidrološkim procesima. Studije su pokazale da proizvodnja fitoplanktona može biti značajna u velikim rekama. Lokalna akumulacija biomase se javlja naročito u plitkim tokovima prilikom niskog izlivanja i zamućenja, kada fitoplankton biva izložen produženim i povoljnim svetlosnim uslovima. Zapažanja u basenu reke Ohio (SAD), na primer, pokazala su da je u vreme velikog izlivanja otpada, produktivnost fitoplanktona u basenu manja <10 % od fitoplanktona koji dolazi od uzvodnog dela rečnog toka i iz pritoka.

- Male reke i potoci: Mnogim lotičkim sistemima dominiraju bentosne zajednice, sa malim razvojem pelagične trofičke mreže. Čvrste površine se brzo kolonizuju mikroorganizmima, što dovodi do razvoja biofilмова bakterija i algi. Ove stalne mikrobne zajednice su važan aspekt lotičkih sredina, sa biofilmovima algi koji daju značajan doprinos primarnoj produkciji. I algalni i bakterijski biofilmovi čine važan deo trofičke mreže ekosistema. Tipično bakterijski biofilmovi proizvode obilne količine vanćelijskog matriksa, stvarajući prepoznatljivo mikro-okruženje koje ograničava obim zajednice.

Tabela 12 Uloga autohtonog i alohtonog DOC u različitim rekama (Burney, 1994)

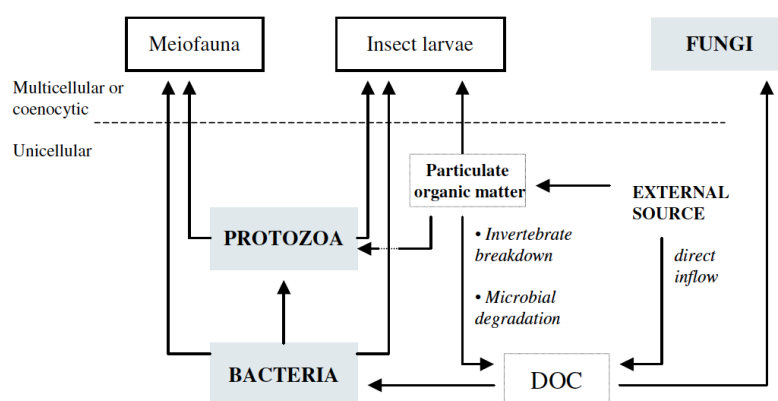
Reka	Maksimalna koncentracija (mg/L)	Minimalna koncentracija (mg/L)	Poreklo DOC
Alohtoni ulazak			Plavljenje ravnica
Gang (Indija)	9.3 (Jul)	1.3 (Jun)	
Bramaputra (Indija)	6.5 (Jul)	1.3-2.6 (ostatak godine)	
Misisipi (USA)	21 (Novembar)	6.0 (mart)	Iz opalog lišća
Autohtoni ulazak			
Shetucket (USA)	6.2-10 (Maj i septembar)	2-4 (januar-april)	Bentosne alge pri sporom toku
Gambia (Zapadna Afrika)	3.7 (Septembar)	1.3 (decembar)	Uglavnom alohtono, manje od

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

			fitoplanktona
--	--	--	---------------

Bentosne bakterije. Bakterije prisutne na površini i u dubljim slojevima sedimenata rečnih korita uključene su u brojne ključne procese ekosistema - razgradnju (mineralizaciju) organske materije, asimilaciju neorganske hranjive materije i deluju kao izvor hrane za druge potrošačke organizme (slika 11). Iako kvantitativni aspekti snabdevanja organskom materijom jasno utiču na brojnost i produktivnost bakterija, kvalitativni aspekti su takođe važni. Tu spadaju isporuka, raspodela veličine čestica i hemijski sastav – a svaki od tih faktora utiče na prostornu i vremensku kompoziciju bakterijskih zajednica. Hemijski sastav je posebno važan i razlike između razgradivog (lako asimilabilan) i teško razgradivog izvora ugljenika utiču na bakterijske zajednice, tj. na potrošnju kiseonika, produktivnost, aktivnost vanćelijskih enzima i sastav zajednice. Rast heterotrofnih bakterijskih populacija u bentosnim sredinama odnosi se na obe produktivnosti (dostupnost organskog ugljenika, neorganskih hranjivih sastojaka, terminalnih akceptora) i procesi gubitaka kao što su ispaša i virusne infekcije.

Relativno nizak nivo fitoplanktona i zooplanktona u lotičkim sistemima znači da ekološke piramide iz reka i potoka izgledaju drugačije od onih u stajaćim vodama. Trofičke mreže lotičkih sistema takođe su veoma različite. Mreža ispaše (fitoplankton, zooplankton, riba) koja dominira jezerima je znatno smanjena i nizak nivo interne (autohtone) proizvodnje DOC od strane fitoplanktona i drugih fotosintetskih organizama znače da pelagična mikrobna petlja (recikliranje ugljenika oslobođenog iz fitoplanktona nazad u makrobiotu) ima mali značaj. Metabolička sprega i korelacija u populacijama između planktonskih algi i bakterija koje postoje u jezerima nije karakteristika lotičkih sistema.



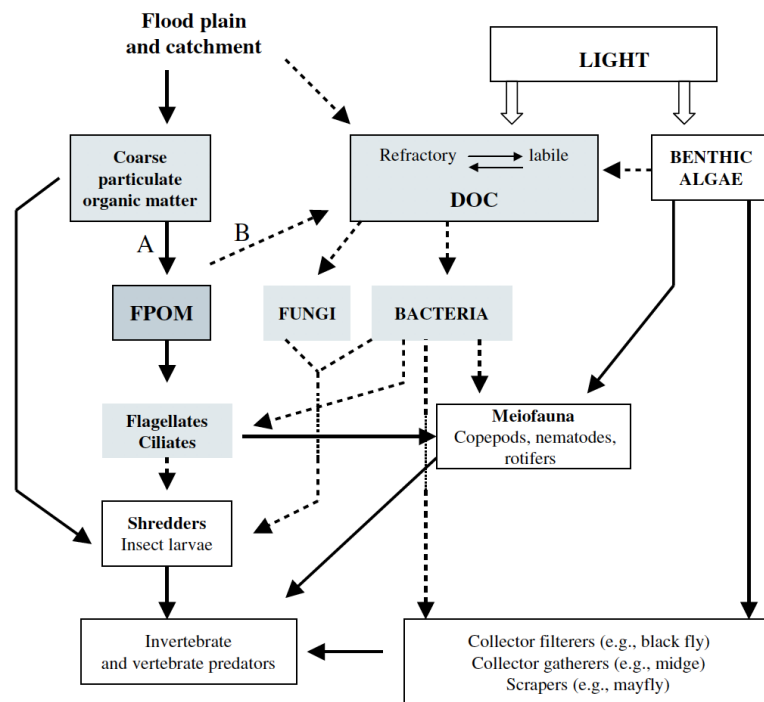
Slika 11. Bentosna mikrobna petlja u tekućim vodama, pokazuje glavne aktivnosti bentosnih mikroorganizama (osencena polja) u pronalaženju tokova rastvorljivog ugljenika i reke.

Iako je pelagična mikrobna petlja od manjeg značaja u većini lotičkih sistema, bentosna mikrobna zajednica je važna u prenosu eksternog DOC u višećelijske organizme u vodenoj sredini (slika 12).

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Ova bentosna mikrobna petlja se pokreće dospevanjem eksternog rastvorenog organskog ugljenika (DOC) i čestica organske materije u rečne sisteme. Čestične organske materije razgrađuju beskičmenjaci (pretvaranje grubih u fine čestice) koje se zatim razgrađuju gljivičnim i bakterijskim egzoenzimima koji formiraju DOC, uz naknadno preuzimanje od strane ove dve grupe organizama. Praživotinje su uključene u direktno usvajanje ovih čestica i ingestiju bakterija. Poređenje pelagične i bentosne mikrobne petlje ukazuje na niz ključnih razlika u internim ili eksternim izvorima ugljenika (tabela 13). Nemikrobna biota ima veći uticaj na bentosne mikrobne petlje, vršeći početno usitnjavanje ili raspadanje organskih krupnih čestica (CPOM) i stvaranja sitnih čestica i DOC koje usvajaju mikroorganizmi. Dakle, postoji relativno dobra povezanost između bentosne i planktonske biote u lotičkim sistema, ali ima manje prenosa biomase između mikroorganizama i krajnjih karnivora unutar rečnih ekosistema.

Mikrobna petlja tekuće vode se završava asimilacijom bakterijskog ugljenika, koji zatim prelazi u višecelijsku biotu. Bakterije čine glavnu mikrobnu biomasu i prisutne su uglavnom unutar biofilmova i povezane sa organskim ostacima kao što je opalo lišće. Unose ih tri glavne grupe bentosnih organizama - protozoe, larve insekata i meiofauna (tabela 14). Oni se razlikuju u efikasnosti kojom ingestiraju bakterije, kako je utvrđeno usvajanjem bakterijskog ugljenika po jedinici težine organizma.



Slika 12. Generalizovana trofička mreža u brzim vodama: prikazane su neke od glavnih veza unutar lotičke trofičke mreže, naglašavajući važnost proizvodnje biomase iz spoljnog ugljenika preko mikrobne petlje (isprekidana strelica); Grube čestice u početku razgrađuju beskičmenjaci (A) na finu partikularnu organsku materiju (FPOM), a zatim uz degradaciono dejstvo enzima (B) na rastvoreni organski ugljenik (DOC). U brzo tekućim

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

izvorima, svetlost deluje prvenstveno na bentosne alge i DOC, sa malo stvaranja autohtonog ugljenika putem fitoplanktona.

Tabela 13 Ključne razlike između mikrobni petlji tekućih i stajaćih voda

	Stajaće (lentičke) vode	Tekuće (lotičke) vode
Glavni izvori DOC	Autohtoni - fitoplankton	Alohtoni
Položaj bakterija u vodi	Plankton	Bentos
Ingestija bakterija	Kao pojedinačni disperzni organizmi	Obično ingestirani sa debrisom biofilma
Veza bentosnih i planktonskih grupa	Loša	Dobra
Broj transfera između bakterija i krajnjih konzumenata	Mnogo	Nekoliko

Tabela 14 Asimilacija bakterijskog ugljenika od strane konzumenata u potocima merena upotrebom radioizotopa; sivi delovi – vrednosti asimilacije ugljenika >1 (iz Meyer, 1994)

Taksonomska grupa	Vrsta/familija	Asimilacija bakterijskog ugljenika
Larve insekata	Pertoperlidae	1.2×10^{-4}
	Tipula	5×10^{-4}
	Stenonema	2
	Simulium	16-267
Izopodni rakovi	Lirceus	$0.7-6 \times 10^{-4}$
Kopepodni rakovi	Herpacticoid (Atthyella)	1-36
Protozoe	Ciliates	6×10^{-2}
	Flagellates	2.8×10^{-1}

Protozoe su grupa jednoćelijskih organizama koja je važna u ispaši biofilmova. Oni imaju značajan uticaj na bakterijske populacije, sa stopama asimilacije reda veličine 10^{-1} do 10^{-2} µg bakterijskog ugljenika po mg biomase protozoa na dan.

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

Larve vodenih insekata unose prisutne bakterije uglavnom na organskim ostacima kao što je opalo lišće. Oni su i predatori i kompetitori mikroorganizama, direktno konzumirajući bakterije i gljivice i takođe usvajaju organski detritus koji je važan u bakterijskim lancima ishrane. Neke larve insekata unose bakterije kao deo detritusa kojim se hrane, što rezultira relativno niskom stopom asimilacije bakterija (oko $10.4 \mu\text{g mg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$). Ostale larve imaju specijalizovane strategije sakupljanja bakterija, uključujući filtraciju i struganje površine, što rezultira mnogo većom stopom asimilacije bakterija.

Meiofauna su životinje nastanjene na dnu jezera ili reke koje su vidljive golim okom, a uključuju kopepode, nematode i rotifere. Oni se generalno smatraju najvažnijim bakterijskim predatorima u lotičkim sistemima, a uključuju i ishranu filtracijom i ispašu na biofilmu. Njihova stopa asimilacije bakterijskog ugljenika je obično za 1–4 reda veličine veća nego kod ostalih potrošača bakterija.

Mikrobna petlja u tekućim vodama je deo složenije trofičke mreže koja takođe uključuje fotosintetski proizveden organski ugljenik od strane algi i viših biljaka, saprofitske i parazitske aktivnosti gljivica i virusa, ali i predatorske beskičmenjake i kičmenjake.

Primarna proizvodnja od strane bentosnih algi (perifiton) varira po značaju u različitim sistemima, zavisno od dubine vodenog stuba i prodiranja svetlosti do supstrata. Svetlost je važna i za produkciju organske materije i za degradaciju neasimilabilnog DOC. UV zračenje se pokazalo da ima glavni efekat u konverziji huminskih kiselina u oblike DOC koje se lakše usvajaju.

Prenos biomase sa mikroba ka karnivorima nema tako definisan put kao u pelagičnim trofičkim mrežama i dominacija biljojedih rakova (zooplankton) u vodenom stubu ne postoji u lotičkoj trofičkoj mreži. Biljojedi se u tekućim vodama uglavnom javljaju na površinama sedimenta i vrše ingestiju bilo nevezanih ili vezanih mikroorganizama. Dakle, potrošnja mikroorganizama u lotičkim zajednicama uključuje ingestiju:

- slobodno pokretnih biota kao što su bakterije i protozoe, prisutne kao lokalizovane populacije oko organskih ostataka, od strane meiofaune i praživotinja;
- mikroorganizama, posebno gljivica i bakterija, koje su prisutne unutar organskih ostataka kao što je opalo lišće - to vrše beskičmenjaci među kojima dominiraju larve insekata
- biofilma i drugi mikroorganizama koji su pričvršćeni za supstrat - ovo se vrši usitnjavanjem, struganjem i grebanjem.

Fragmentacija i ingestija lišća od strane beskičmenjaka zahteva delimičnu razgradnju ovoga materijala aktivnošću gljivica. Kolonizacija supstrata, invazija i maceracija od strane

1. Mikrobiološki diverzitet u slatkovodnim ekosistemima

ovih organizama na taj način promoviše njihovu sopstvenu ingestiju tokom završnih faza razgradnje lišća.

2. UTICAJ FIZIČKO-HEMIJSKIH USLOVA SREDINE NA ZAJEDNICE MIKROORGANIZAMA U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA

2.1. Uvod

Voda ima veoma specifična fizička i hemijska svojstva. Predstavlja univerzalni rastvarač i sredinu gde se odvijaju svi biohemijski procesi. Na mikro nivou vodena sredina koja okružuje organizme u površinskim vodama je heterogena mešavina tri glavne komponente: partikularne ili čestične materije, rastvorljive komponente i vodenog matriksa (Tabela 1).

Pod čestičnom materijom podrazumevamo sav materijal organskog i neorganskog porekla koji je veći od 0,2 μm i ona može biti gruba (>1mm) ili fina čestična materija (0,2 μm – 1mm). Čestična materija organskog porekla se sastoji od živog dela kojeg čine planktonski organizmi i neživog dela kojeg čini odumrli organski materijal uglavnom biljnog porekla ili može poticati od uginulih planktonskih organizama. Rastvorena organska materija podrazumeva čestice veličine manjih od 0,2 μm gde spadaju virusi, organski molekuli većih i manjih molekulskih masa i neorganski anjoni i katjoni. Uzimajući u obzir navedene klasifikacije svi mikroorganizmi su glavne komponente sve tri grupe organskog materijala odnosno predstavljaju grubu i finu čestičnu kao i rastvorenu organsku materiju.

Tabela 15 Klasifikacija organskog materijala u akvatičnim sredinama na osnovu veličine

(Tabela 2.1 ispod će biti ubačena u ovu tabelu uz prevod na srpski i tako svaka naredna)

Kategorija	Veličina	Neživi materijal	Živi materijal
Voda	Zemlja	Vazduh	Biota

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Table 2.1 Size classification of organic material in aquatic systems

Size category	Size range	Non-living material	Living material
Coarse particulate organic material (CPOM)	>1 mm	Breakdown products of higher plants (e.g., leaf litter) and plankton debris	Wide range of planktonic organisms
Fine particulate organic material (FPOM)	0.2 μm–1 mm		
Dissolved organic material (DOM)*	<0.2 μm		
		Fine debris Algal exudates Humic acids	Viruses

*Dissolved organic material (DOM) is sometimes measured as dissolved organic carbon (DOC) and is the same biomass.

Voda je izuzetno bitna kao sastavni deo živih organizama, ali i kao njihovo stanište, te su fizičke i hemijske osobine vode odgovorne za dinamiku zajednica mikroorganizama.

2.2. Fizičke osobine vode

Voda je neobična u poređenju sa drugim molekulima slične strukture (H₂S, NH₃, HF) po tome što postoji kao tečnost, a ne kao para na zemljinoj površini i jedna je od samo dve neorganske tečnosti (zajedno sa živom) koje mogu postojati u ovom stanju na ambijentalnoj temperaturi i pritisku. Jedinstvene osobine vode rezultat su njene neobične molekularne strukture, sa razdvajanjem naelektrisanja između elektronegativnog kiseonika i elektropozitivnog atoma vodonika. Ovaj asimetrični raspored naelektrisanja dovodi do formiranja vodoničnih veza između molekula, što rezultuje molekularnim kompleksima - (H₂O)_n - sa polukristalnom strukturom. Voda ima širok temperaturni opseg, visoke vrednosti za viskoznost, specifični toplotni kapacitet, latentnu toplotu isparavanja, dielektričnu konstantu i površinski napon. Toplotna provodljivost, apsorpcija svetlosti i koeficijenti rasejanja pokazuju niske vrednosti. Ove osobine imaju veliki uticaj na fizičke karakteristike vodene sredine, uključujući temperaturne promene na površini vode, stvaranje leda, stratifikacija, mešanje i cirkulacija vode, taloženje čestica unutar vodenog stuba i svetlosni režim jezera i reka (tabela 2). Neka fizička svojstva, poput koeficijenta toplotne ekspanzije i viskoznost, znatno variraju sa temperaturom - pa i uticaji životne sredine jako zavise od temperature. Koeficijenti apsorpcije i rasejanje svetlosti variraju u zavisnosti od karakteristike spektra i od talasne dužine.

Tabela 16 Neke osobine vode (Dodds and Whiles, 2020)

Osobina

Poređenje sa ostalim supstancama

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Table 2.1 Some properties of water

Property	Comparison with other substances
Density	Maximum near 4°C, not at freezing point, expands upon freezing
Melting and boiling points	Very high
Heat capacity	Only liquid ammonia is higher
Heat of vaporization	Among highest
Surface tension	High
Absorption of radiation	Minimum in visible regions; higher in red, infrared, and ultraviolet
Solvent properties	Excellent solvent for ions and polar molecules. Increases for ions with increasing temperature, decreases for gases with increasing temperature

Source: Adapted from Berner and Berner (1987).

2.2.1. Uticaj fizičkih osobina vode na biologiju vodenih mikroorganizama

Fizička svojstva vode imaju značajan i širok uticaj na biologiju slatkovodnih mikroorganizama kroz svoje uticaje na vodeno okruženje. Neki od ovih efekata su opšti za sva vodna tela, dok su drugi specifičniji za lotičke odnosno lentičke sisteme.

Opšti efekti Temperature karakteristike vode su važne osobine kojima se vrši modulacija uticaja spoljašnjih promena u atmosferskoj temperaturi. Niska toplotna provodljivost i veliki toplotni kapacitet moduliraju dnevne i sezonske promene temperature. Ovo ima veliki uticaj na brojne procese uključujući relativno visoku brzinu razgradnje biodegradabilnog materijala od strane gljiva i drugih saprotrofa u odnosu na terestrična staništa. Ostale karakteristike od opšteg značaja uključuju visoki površinski napon koji omogućava razvoj neustonskih zajednica, slaba apsorpcija i rasipanje svetlosti. Prodiranje svetla u dubinu vodenog stuba i osvetljavanje sedimenta pospešuje fotosintezu i druge aktivnosti u raznim vodenim sredinama.

Lotičke sredine Strujanje vode u lotičkim sistemima se može kvantifikovati pomoću bezdimenzionalnog **Rejnoldsovog broja** (Re), gde je:

$$Re = U \cdot L / \eta$$

U je brzina toka tečnosti ($m \cdot s^{-1}$), **L** je karakteristična dužinska skala (m) i **η** je kinematična viskoznost (Kirk, 1994).

Rejnoldsov broj je karakterističan za određenu situaciju u difuznom toku i može se koristiti za razlikovanje laminarnog do turbulentnog strujanja vode. Kada su vrednosti Re niske ($Re < 500$) tada preovlađuju viskozne sile i strujanje vode je laminarno. Povećane

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

vrednosti Reynoldsovog broja (500–1000) ukazuju na prelazno strujanje, a vrednosti veće od 1000 označavaju turbulentno strujanje vode. Reynoldsov broj kvantifikuje odnos inercijalne i viskozne sile unutar tečnosti i naglašava značaj viskoznosti u određivanju karakteristika strujanja potoka ili reka. Relativno velika viskoznost vode smanjuje vrednost Re i favorizuje laminarne uslove strujanja. Brzina i vrsta strujanja vode su značajni za lotičke bentosne zajednice u pogledu disperzije, prikupljanja hranljivih sastojaka, kompeticije, interakcije predator-plen i stvaranje mikro okruženja (Odeljak 2.10).

Lentičke sredine. Fizička svojstva vode su važna za jezerske mikroorganizme na brojne specifične načine, uključujući stratifikaciju jezera (Odeljak 2.5.1), cvetanje leda i uspostavljanje površinskog biofilma - neustona.

Cvetanje leda. Promene gustine vode sa temperaturom su posebno važne za održavanje termičke stratifikacije unutar stajaćih voda, sa temperaturom koja se uobičajeno smanjuje sa dubinom u vodenom stubu. Gustina vode, međutim, dostiže maksimum na 3,95 oC, što rezultuje obrnutom stratifikacijom ispod leda (temperatura se povećava sa dubinom) kako se površinske vode približavaju tački smrzavanja. Nepravilna kriva odnosa temperature i gustine vode je posebno važna kod vodnih tela koja su prekrivena ledom (Bajkalsko jezero - Rusija) gde lokalno povišena temperature vode ispod leda u kasno proleće uslovljava slabo konvekciono strujanje. Ono je dovoljno za održavanje zajednice mikroorganizama (posebno dijatomeja) u suspenziji ispod leda i to u doba godine kada se intenzitet svetlosti povećava, što rezultuje masovnijim razvojem algi tj. dolazi do cvetanja algi.

Površinske zajednice biofilma. Visoki površinski napon vode je važan za uspostavljanje površinskog biofilma. Smanjenje površinskog napona od strane organskih molekula dovodi do njihove spontane adsorpcije za površinu koja se nalazi na prelazu sredina vazduha i vode što stvara mikro sloj sa velikom količinom hranjive materije (odeljak 2.16). To postaje sredina koju naseljavaju mikroorganizmi što dovodi do razvoja guste površinske populacije bakterija, algi i praživotinja. Ovi površinski mikroorganizmi deo su veće zajednice površinske biote (neuston), koji uključuju i razne beskičmenjake.

2.3. Slatkovodne sredine

Slatkovodne sredine pokazuju veliku varijabilnost u pogledu veličine, trajnosti i kompleksnosti. One se razlikuju u pogledu stanja vodenog medija (smrznuti ili tečni) i po brojnim drugim fizičko-hemijskim uslovima nametnutih živim organizmima koji ih naseljavaju. Na osnovu toga kao dominantne vodene ekosisteme među lentičkim možemo izdvojiti **jezera** i **močvare**, dok među lotičkim dominantni su **reke** i **estuari**. Iako većina ovih sredina omogućava velikom broju mikroorganizama da prežive i rastu pod 'normalnim' uslovima, druga okruženja su restriktivna u pogledu podrške slatkovodnim

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

biotama. Takve „ekstremne“ sredine ozbiljno ograničavaju metaboličke aktivnosti vodenih organizama.

U Tabeli 3 su navedene mikrobološke zajednice koje dominiraju glavnim slatkovodnim sistemima i najvažnija fizička i biološka ograničenja koja utiču na njih. U pitanju su složene interakcije između hidrologije (protok, turbulencija), spoljnih faktora (svetlost, temperatura) i bioloških ograničenja (kompeticija za hranljive materije, kolonizacija, ispaša).

Tabela 17 Fizički i biološki faktori koji utiču na zajednice mikroorganizama u različitim slatkovodnim staništima

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Table 2.3 Physical and biological factors affecting the microbial communities in different freshwater environments

Environment	Major microbial community	Major physical characteristics	Major biological constraints
Lake	Plankton	Stratification Wind-generated turbulence	Nutrient competition Grazing Parasitism
Wetlands			
(a) Flood plain	Plankton Epiphytic biota	Periodic desiccation	Competition between algae and macrophytes
(b) Permanent	Benthos	Periodic flooding	
River	Benthos	Linear flow Flow-generated turbulence	Colonization competition Biofilm grazing
Estuary			
(a) Mudflats	Epipellic biofilms	Desiccation High Light Exposure to salt water	Competition and grazing at mud surface
(b) Outflow	Plankton	Mixing with saltwater Turbidity	Grazing in water column

2.4. Jezera

Dominantna zajednica mikroorganizama u jezerima jeste plankton uključujući bakterije, alge, protozoe i beskičmenjake koji naseljavaju najveći deo jezera i sačinjavaju glavnu biomasa. Rast i razvoj ovih i ostalih jezerskih organizama su određeni lokalnim hemijskim (npr. koncentracije hranljivih sastojaka) i fizičkim uslovima sredine (npr. režim svetlosti), koji su pak određeni opštim geomorfološkim i geografskim odlikama, uključujući sledeće.

- Morfologija i hidrologija jezera: ovo uključuje ukupnu strukturu jezera (morfologiju), dotok vode u jezero i van njega (hidrologiju) i interakcija jezera sa okolnom sredinom.
- Klimatsko okruženje: vremenski uslovi utiču na različite fizičke parametre jezera uključujući režim svetlosti, temperaturu i kretanje vode

Dugoročna evolucija jezerske biote je bila pod snažnim uticajem drugih geografskih odlika jezera - njihova izolacija i nezavistan razvoj. Ovi široki aspekti se razmatraju u odnosu na biologiju jezerske biote, sa posebnim naglaskom na mikroorganizme.

2.4.1. Morfologija i hidrologija jezera

2.4.1.1. Morfologija jezera

Pod morfologijom jezera se podrazumeva oblik jezerskog basena, koji je od značaja zbog akumulacije nutrijenata, mešanja vode duž vodenog stuba, prodiranja svetlosti i toka vode koji dele jezero na zone. Plitka zona jezera gde dovoljno svetla stiže do dna i omogućava rast fotosintetičkim organizmima naziva se **litoral**, a centralni deo jezera koji se sastoji od vertikalnog stuba vode smeštenog između površine i zone sedimenta gde se

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

nalaze slobodnoplutajući organizmi (plankton) označen je kao **centralni region ili pelagijal**.

2.4.1.2. *Litoral i centralni regioni*

Većina jezera ima jasno razdvojen litoral i centralni region, pri čemu svaki ima svoje karakteristične zajednice. Razvoj zajednice viših biljaka (makrofite) kao deo litoralne flore je tipično za mezotrofna i eutrofna vodna tela, ali ne [oligotrofna](#).

Litoralna zona predstavlja priobalni deo jezera sa jasnim fizičkim, hemijskim i biološkim osobenostima. To je sredina u kojoj ima dosta svetla i koja je pod mehaničkim uticajem talasa. Velika količina svetla omogućava rast viših biljaka sa snažno razvijenim korenom koji im omogućava da opstanu u zoni pod jakim mehaničkim delovanjem talasa. Ovakava zajednica je dominantna u mezo- i eutrofnim jezerima dok je veoma slabo zastupljena kod oligotrofnih jezera.

Ovakvi uslovi u litoralnoj zoni omogućavaju razvoj bogate mikrobiološke zajednice sa puno algalne biomase koja sa bakterijama i protozoama stvara obraštaj na površini sedimenta ili na površini biljaka formirajući zajednicu **perifitona**. Ova zajednica se jasno razlikuje od mikrobiološke zajednice pelagijalne zone kako u pogledu strukture tako i u pogledu njene fiziologije. Litoral se karakteriše usvajanjem i metabolizmom alohtonog rastvorljivog organskog ugljenika. Alohtoni organski ugljenik u jezero dospeva pre svega sa okolnog zemljišta i procesi kao što su padavine i spiranje zemljišta imaju značajan uticaj na količinu organske materije koja dospeva u vodu. Sem toga na količinu unešenog organskog ugljenika utiče i klima, kao i priroda okolnog zemljišta. Alohtoni organski materijal predstavlja izvor ugljenika za zajednicu heterotrofnih mikroorganizama, ali i izvor jona fosfata i nitrata. Na taj način pruža se potpora rastu i heterotrofa i fotoautotrofa. Unos stranog materijala utiče i na svetlosne uslove u litoralu. Povećana koncentracija čestica u vodenom stubu apsorbuje svetlost usporavajući rast fotoautotrofnih članova mikrobiološke zajednice. Povećani unos različitih organskih jedinjenja može izazvati vezivanje slobodnih jona najčešće za huminske kiseline. To može izazvati nedostatak ključnih makroelemenata azota i fosfora kao i drugih limitirajućih elemenata (trovalentno gvožđe).

Pelagijalna zona se nalazi u centralnom delu jezera sa ograničenom količinom svetla koje dospeva u vodeni stub. Na samoj površini vode u pelagijalu formira se zajednica neustona koju pored mikroorganizama u formi biofilma, čine i pojedine životinje odnosno larve insekata i biljke. Glavna zajednica mikroorganizama predstavljena je **planktonom** odnosno zajednicom slobodnolebdećih organizama koji naseljavaju vodenu kolonu i čine najveći deo mikrobne biomase centralnog dela jezera. Vodena kolona jezera je u tesnoj vezi sa sedimentom koji se nalazi na dnu basena. Ovaj deo je naseljen

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

organizmima koji imaju zajedničko ime **bentos**. Ključni članovi ove zajednice su heterotrofne bakterije.

U pogledu osnovne morfologije razlikuju se plitka nestratifikovana i duboka stratifikovana jezera svako sa svojim karakterističnim sastavom mikrobioloških zajednica.

2.4.1.3. *Plitka jezera*

Dubina je važna osobina morfologije jezera jer utiče na brojne abiotičke faktore poput svetlosti, temperature, mešanja vode koji značajno utiču na razvoj mikrobioloških zajednica.

Plitka nestratifikovana jezera pokazuju manje razlike između litorala i centralne zone u pogledu ekoloških uslova sredine, pa samim tim ima i manjih razlika u pogledu sastava mikrobioloških zajednica (Slika 1b). U jezerima sa dubinom manjom od šest metara voda je previše plitka da bi došlo do stratifikacije sa turbulentnim mešanjem koje postoji tokom perioda rasta. Stalno mešanje vode održava dijatomeje u suspenziji što negativno utiče na razvoj kolonijских modrozelenih algi. Na ovaj način se sprečava nastanak zajednica anaerobnih fotoautotrofa i heterotrofnih bakterija koje zahtevaju anoksiju i redukcione uslove sredine. Svetlost veoma često dopire do dna što uslovljava stvaranje algalnog obraštaja na površini sedimenta i stvaranja autotrofne bentosne zajednice. U nekim severnijim plitkim jezerima bentosna primarna produkcija čini i do 90% od ukupne primarne produkcije jezera. Povećanjem trofičnosti dolazi do bujanja fitoplanktona i povlačenja bentosne algalne zajednice. U slučaju da jezero bude još pliće doći će do transformacije plitkog jezera u vlažne močvare gde su bentosne alge u kompeticiji sa makrofitama.

Kod **dubokih stratifikovanih jezera** čija dubina iznosi više od 20 metara, mogu se uočiti jasne razlike između litoralnih i pelagijalnih mikrobioloških zajednica (Slika 1a). Tokom letnjih meseci u stratifikovanoj koloni se jasno mogu uočiti autotrofna zajednica koja dominira u **epilimnionu** i zajednica heterotrofa koje se nalaze u **hipolimnionu**. Usled nedostatka svetla na površini sedimenta se razvijaju heterotrofne bakterijske zajednice. Stratifikovana vodena kolona leti podržava rast kolonijских modrozelenih algi u epilimnionu i poseban sloj fotosintetičkih bakterija koje nastanjuju najdublji deo fotičke zone gde vladaju redukcioni uslovi sredine.

Stratifikovana jezera su dublja od 20 metara i mogu se jasno uočiti različite zajednice mikroorganizama u litoralu. Litoralne zajednice su uglavnom sačinjene od makrofita, **perifitona** (filamentozne i jednoćelijske alge na sedimentima), **metafitona** (plutajuća algalna biomasa), **epifitona** (alge koje rastu na lišću ili stabljikama viših biljaka) i raznih biofilmova. Pelagijalna zona se odlikuje drugačijim sastavom zajednica. Usled ograničenog prodora svetlosti, u pelagijalu se mogu izdvojiti tri zone: gornja, autotrofna

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

– epilimnion, srednja – metalimnion i donja, heterotrofna – hipolimnion. Najdominantnija jeste zajednica planktona (slobodnolebdećih mikroorganizama), ali javljaju se i **neuston** (zajednica ispod same površine vode), **nekton** (zajednica aktivno pokretnih organizama) i **bentos** (zajednica dna). U planktonu su najviše zastupljene modro-zelene alge i fotosintetske bakterije, dok u bentosu heterotrofne bakterije i protozoe.

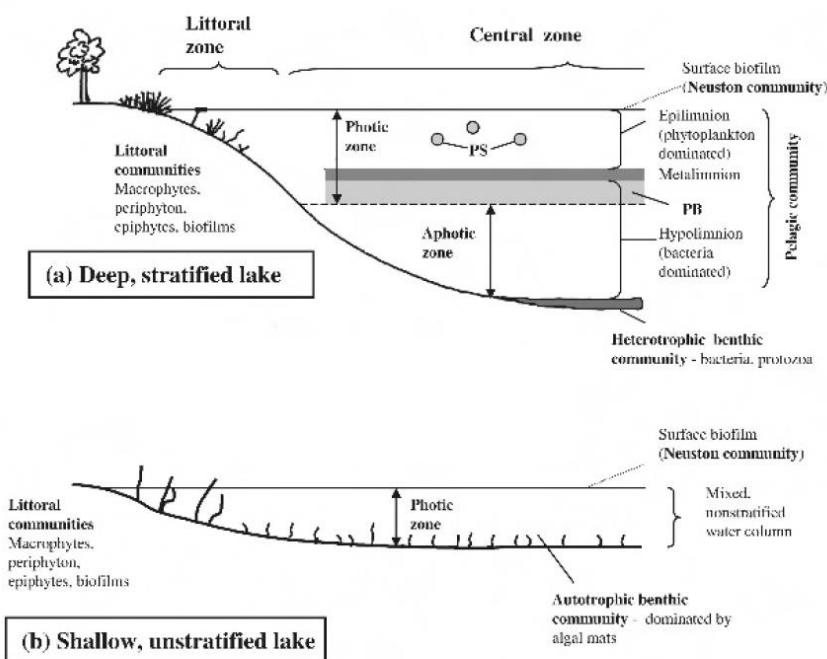


Figure 2.4 Lake morphology and major communities – deep lake and shallow lakes may develop very different communities (figures not drawn to scale)

Slika 1 a) Duboko stratifikovano i b) plitko nestratifikovano jezero sa karakterističnim zajednicama (Biće prevedeno i citirano)

2.4.1.4. Hidrologija jezera i okolnih terestričnih sredina

Reke koje se ulivaju i odvođe vodu iz jezera višestruko utiču na njegovu evoluciju, fizičke i hemijske osobine vode, organsku produkciju, vodostaj i vodni bilans. To znači da jezera ne možemo posmatrati izolovano od njihovih slivova.

Hidrologija jezera podrazumeva sve aspekte koji se odnose na količinu vode koja se uliva i izliva iz jezera. Veliki deo vode jezera potiče od pritoka koje prolaze kroz okolno zemljište tako da su hemijske osobine jezerske vode određene hemijom voda koje dospevaju u jezero. Upliv neorganskih, rastvorljivih organskih materija, suspendovanih čestica određuju trofičnost jezera i imaju krucijalni uticaj na razvoj živog sveta u njemu.

2.4.1.5. Hidrologija i trofički status

Značaj uticaja jezerskog sliva na biologiju jezera je posebno dobro vidljiv kada se uporede planinska i nizijska jezera. **Jezera u planinskim oblastima** imaju sliv na kojem

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

se nalazi relativno neplodna zemlja što rezultuje u njihovom oligotrofnom statusu. Nasuprot tome **nizijska jezera** sakupljaju vodu sa plodnog okolnog zemljišta (često su u pitanju oranice) i ona su tipični primer jezera sa eutrofnim statusom. Prisustvo i tip vegetacije na zemljištu sliva može biti takođe značajan. Ovo je vidljivo kod oligotrofnih jezera koja su okružena gustim šumama. Boja jezerske vode je indikator relativno velike količine eksterno donešenih organskih materijala koji su rastvoreni u vodi. Ulazak veće količine organskog materijala ima važan uticaj na biologiju jezera. To se može videti na primeru kvaliteta svetla koji utiče na masovni razvoj odnosno cvetanje modro zelenih algi. Dublji prodor crvenog svetla u poređenju sa ostalim talasnim dužinama je značajno za sastav fotosintetskih pigmenata i fotosintetsku aktivnost. Kao posledica globalnog zagrevanja šumski požari su mnogo češći na teritorijama jezerskih slivova pri čemu se stvaraju oblasti koje su bez šuma. Povećana hidroerozija sa takvih ogolelih površina povećava upliv nutrijenata u jezero što može dovesti do povećane trofičnosti i pojave ekstenzivnog razvoja modro zelenih algi.

Alohtoni rastvoreni organski ugljenik može doći u slatkovodne ekosisteme spiranjem sa okolnog zemljišta uticajem klime, vegetacije i toka vode. Efekti alohtone organske materije na sastav litoralnih zajednica može biti takav da ili pospešuje ili inhibira njihov rast. Ova organska materija predstavlja dobar izvor energije za rast mikroorganizama, ali može biti i štetna zbog stvaranja slobodnih radikala ili ugljen monoksida. Direktno izaziva povećanje biomase zajednice bentosa na čvršćim podlogama (epiliton), ali na zajednice na finijim podlogama nema isti efekat. Visoke koncentracije organske materije, mogu smanjiti prodor svetlosti duž vodenog stuba i na taj način inhibirati mirkobijalni rast, dok će ga UV zraci pospešiti.

Ulaskom alohtone organske i neorganske materije u jezero, njegov trofički status biva poremećen. Sastav zajednica zavisi od toga da li je jezero oligotrofno (ima manju količinu nutrijenata, manje je produktivno) ili pak eutrofno. Na primer, zajednica makrofita (lokvanji, oštrice) je veoma dobro razvijena u eutrofnim jezerima, dok je u oligotrofnim siromašna. Eutrofna jezera u sastavu fitoplanktona imaju pripadnike razdela cijanobakterija i silikatnih algi, dok će oligotrofna imati malobrojne predstavnike zlatnih i zelenih algi.

Efekat lokacije i hidrologije na dostupnost hranljivih sastojaka u jezeru određuje brojne biološke osobine jezera kao što su: biomasa fitoplanktona (primarna produkcija), rast bakterija i zooplanktona (sekundarna produkcija), prodiranje svetlosti i oksigenacija unutar vodenog stuba. Opšte osobine eutrofnih i oligotrofnih jezera su prikazani u tabeli 4.

Tabela 18 Opšte karakteristike oligotrofnih i eutrofnih jezera

Parametar

Oligotrofna jezera

Eutrofna jezera

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Table 2.5 General features of eutrophic and oligotrophic lakes

Parameter	Oligotrophic lakes	Eutrophic lakes
Morphology and hydrology	Often deep highland lake with infertile undisturbed catchment area	Often shallow lowland lake with cultivated, disturbed or naturally fertile catchment area
Nutrients Availability	Low (limiting) levels of at least one major nutrient (N, P, or Si)	High winter levels. High supply rates
Presence in water column	Minor loss from epilimnion. Reduced compounds become oxidized throughout	Major depletion in epilimnion. Reduced compounds in hypolimnion
General productivity	Low primary and secondary productivity	High primary (algae) and secondary (all other biota) productivity
Phytoplankton species	Species adapted to low nutrient lakes: desmids and chrysophytes	Species adapted to high nutrient lakes: centric diatoms and colonial blue-greens
Light penetration	High, due to transparent water. Often reaching below thermocline. Secchi depth 8–40 m	Low, due to cloudy water. Often not reaching thermocline. Secchi depth 0.1–2 m
Oxygenation	Saturation in epilimnion, with little variation through water column	Great variation in water column. Supersaturated (100–250%) in epilimnion, low levels (0–100%) in hypolimnion
Macrophyte vegetation	Poorly developed or absent	Water lilies and sedges well developed in littoral zone

A more detailed view of biological changes with trophic status is given in Table 10.3.

2.4.1.6. *Dotok, otok i protočnost jezera (retenciono vreme)*

Većina prirodnih jezera imaju dotok i otok čime se jezerska voda postepeno zamenjuje. Prosečno vreme potrebno da bi se jezero napunilo vodom pod pretpostavkom da je jezerski basen prazan naziva se **protočnost jezera** ili srednje hidrauličko vreme zadržavanja. Ova veličina nam nudi brzinu cirkulacije vode unutar akvatičnog sistema. Ovu veličinu možemo obeležiti sa D i izračunava se kao količnik između zapremine jezerske vode (W) i prosečnog godišnjeg oticaja vode iz jezera odnosno proticaja (Q) (Raičević i Crnogorac, RC 2011). Ono zapravo označava koliko je vremena potrebno da bi se zamenila jedna zapremina posmatranog jezera. Postoje jezera sa kratkim i jezera sa dugačkim hidrauličkim vremenom zadržavanja, ali se kod većine jezera vrednost kreće u intervalu od 1 do 10 godina. Na ovaj način se može proceniti koliko vremena je potrebno molekulu vode da prođe kroz sistem nestratifikovanog dobro mešanog vodnog tela.

Protočnost utiče za mikroorganizme jezera na dva glavna načina: (i) kratkotrajno nagomilavanje biomase što je svojstveno jezerima sa veoma kratkim protočnim vremenom. Brz protok pelagijalne biomase sprečava akumulaciju fitoplanktona i pojavu

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

cvetanja algi. Ova neželjena pojava može biti kontrolisana jednostavnim ispiranjem sistema. (ii) Dugotrajna akumulacija nutrijenata u jezerima sa dugom protočnošću. Voda ovih jezera stalno služi kao slivnik za nutrijente što nakon dužeg vremena dovodi do povećane koncentracije nutrijenata i eutrofizacije.

Postoje i jezera sa promenljivom protočnošću što može da utiče na promenu u koncentraciji nutrijenata u jezeru i ubrzanju eutrofizaciji. Sa druge strane imamo jezera kao što je Mrtvo more u Izraelu koje ima dotok, ali nema otok vode. Voda iz jezerskog basena se gubi isključivo isparavanjem što je posle dugog vremenskog perioda dovelo do povećanog saliniteta i stvaranja jednog od najpoznatijih ekstremnih vodenih staništa sa veoma specifičnom zajednicom ekstremofilnih mikroorganizama.

Mnoga jezera, baš zbog prostorne izolacije, imaju bogat biodiverzitet flore i faune, koja je često endemična. Razlog je što su fizičko-hemijski uslovi sredine u takvim ekosistemima postojani duži vremenski period, nema čestih perioda stresa za organizme, te je evolucija išla u potpuno drugom pravcu.

2.4.2. Uticaj klime na jezera

Promenom klimatskih faktora dolazi i do promene fizičkih karakteristika jezera, pre svega u pogledu promene temperature, svetlosnog režima i protočnosti, mešanja vode izazvanog vetrom itd. Kiše su važne u pogledu dotoka, zapremine jezera i protočnosti dok kombinovani efekat solarnog zagrevanja vode i aktivnost vetra određuju gubitak vode isparavanjem. Efekat delovanja vetra na izazivanje vertikalnog mešanja jezera je važno za preraspodelu hranljive materije i održavanje teških ćelija fitoplanktona (naročito dijatomeja) u suspenziji. Većina umerenih jezera je plitko do umereno duboko i pokazuju kompletno mešanje vode u koloni (holomiktička jezera). Voda u nekim jezerima (duboka planinska jezera) nikada nije potpuno pomešana u čitavom vodenom stubu (meromiktična). Nedostatak potpunog mešanja unutar vodenog stuba u oligotrofnim jezerima može izazvati dugotrajnu akumulaciju hranljivih sastojaka u hipolimnionu, sa retkim oslobađanjem koje tada izaziva velike probleme eutrofizacije. Uticaji klimatskih faktora na jezera su važni u pogledu sezonskih promena unutar određenog jezerskog sistema, a takođe u utvrđivanju geografskih razlika između stajaćih voda. Ta svojstva kao i sastav zajednica dosta variraju i u zavisnosti od geografske širine, tj. da li je jezero u umerenoj, tropskoj ili polarnoj oblasti.

2.4.2.1. Jezera umerenog klimatskog pojasa – sezonske varijacije i stratifikacija jezera

Jezera umerenog pojasa spadaju u grupu dimiktičnih (dolazi dva puta do mešanja vode u toku jedne godine) i holomiktičnih (zbog mešanja duž celog vodenog stuba) (Slika 2).

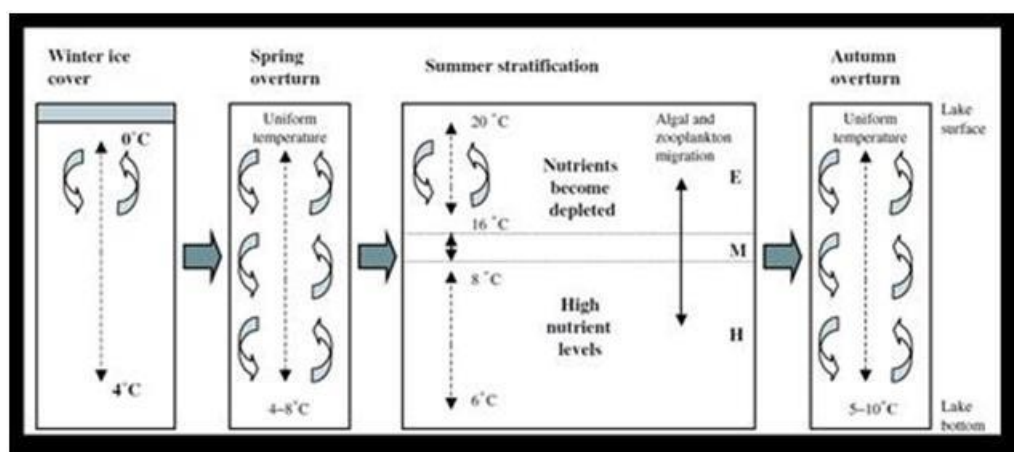
2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

2.4.2.2. Zimska stratifikacija

U toku zime led prekriva površinu jezera te vetar ne može da izazove talase i mešanje vode pa dolazi do nagomilavanja nutrijenata u hipolimnionu. Javlja se inverzna stratifikacija, koja se ogleda u porastu temperature vode duž vodenog stuba (na površini 0 oC, na dnu 4oC). Dolaskom proleća temperatura vode počinje da raste i tako dolazi do ograničene cirkulacije vode ispod leda čime se pospešuje cvetanja algi.

2.4.2.3. Prolećno mešanje vode

Kasnije u proleće, nakon topljenja leda temperatura u jezeru se izjednačava u celom vodenom stubu (4 - 8°C), vetar izaziva mehaničko mešanje i nutrijenti bivaju ravnomerno raspoređeni u vodenom stubu. Ova pojava se zove prolećno mešanje vode i njena posledica je uniformnost ekoloških faktora u celoj vodenoj koloni.



Slika 2 . Stratifikacija jezera umerenog pojasa tokom godine na kome se uočavaju glavne faze pri čemu su prikazani temperaturni gradijenti i mešanje vode

2.4.2.4. Letnja stratifikacija

Leti su jezera izložena intenzivnom sunčevom zračenju; temperatura vode na površini raste, dok sa povećanjem dubine opada. Umerena aktivnost vetra izaziva cirkulaciju vode samo u površinskim delovima. Tokom leta nastupa takozvana letnja stratifikacija i u vodenom telu se mogu jasno uočiti tri sloja: **Epilimnion** (20 – 16°C), gde u toku dana dominira zajednica fitoplanktona, a u toku noći zooplankton. Ovaj sloj je odvojen od hladnijeg donjeg sloja **hipolimniona** i to prelaznim slojem koji se zove **metalimnion** (Slika 3). Za metalimnion se koristi izraz termoklina, jer u njemu dolazi do naglog opadanja temperature usled loše toplotne provodljivosti višeg sloja. Hipolimnion (6 – 8 oC) je statični sloj u kome dopire jako malo svetlosti. Sa povećanjem dubine temperatura postepeno opada, a koncentracija kiseonika je niska usled intezivnih procesa mikrobiološke mineralizacije organskih materija.

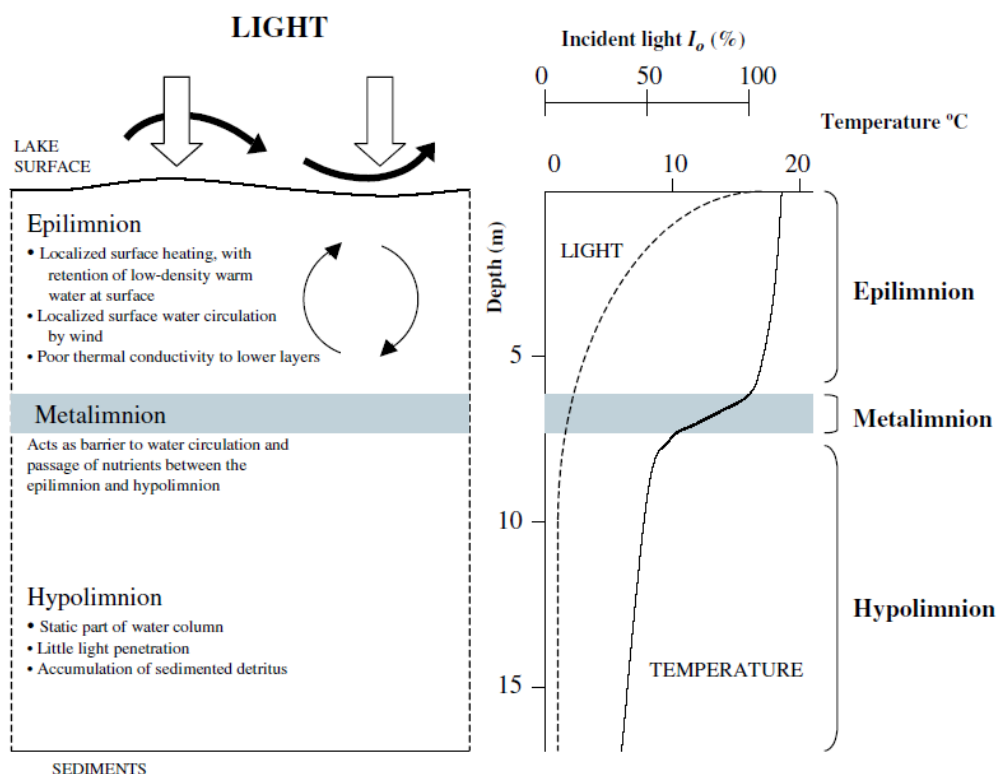


Figure 2.11 Development of stratification in the water column of a temperate lake. In late spring, increased solar energy (\downarrow) and mild wind activity (\rightleftarrows) creates a surface layer of warm water, the epilimnion. This becomes separated from a cooler lower layer (hypolimnion) by a transition zone – the metalimnion or thermocline. The stratified water column shows vertical differentiation in relation to light intensity, temperature and water circulation. The effects of stratification on oxygenation and the distribution nitrates, nitrites and ammonia are shown in Figure 5.9

Slika 3 Stratifikacija vodene kolone u jezeru umereno kontinentalnog klimatskog područja

2.4.2.5. Jesenje mešanje vode

Pad temperature u jesen izaziva hlađenje vode te usled porasta gustine i aktivnosti vetra temperatura se izjednačava u svim delovima jezera (5 - 10°C) i to predstavlja drugo sezonsko mešanje vode (Slika 2). Aktivnost vetra ubrzava ovaj proces smanjenjem površinske temperature kao rezultat povećanog isparavanja. Zamrzavanje površine jezera vraća jezero u period zimske stratifikacije.

Ovakva stratifikacija jezera je od neprocenjivog značaja za celu jezersku biocenozu. Primarna produkcija biomase i usvajanje neorganskih jedinjenja se dešavaju u epilimnionu. Fitoplankton ovde buja i usled intezivnog rasta potroši gotovo sve nutrijente iz ovog dela jezera, dok se u hipolimnionu oni nagomilavaju. Zahvaljujući tome dolazi do intenzivnog razvoja zajednica heterotrofnih bakterija i zooplanktona. Ovakvi uslovi izazivaju pojavu dnevnih migracija fito- i zooplanktona (cirkadijalne migracije). Pri kraju perioda stratifikacije migracije algi u vodenom stubu postaju važne jer one uglavnom migriraju u donji deo jezera gde mogu pronaći dovoljno hranljivih materija. Odumiranje živih organizama u epilimnionu dovodi do taloženja organskih ostataka koji dospevaju

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

do hipolimniona koji podržava rast heterotrofnih bakterija. Nutritivni status hipolimniona se popravlja kada prilikom mineralizacije organskih materija dolazi do oslobađanja fosfata iz sedimenata. Letnja stratifikacija jezera uslovljava podelu vodenog tela na posebne delove koje karakterišu odnosno razdvajaju fizičke, hemijske i biološke osobine.

Sa dolaskom jeseni i proleća nutrijenti sa dna prvo postaju dostupni algama, a onda novonastala algalna biomasa postaje dostupna heterotrofima u hipolimnionu.

2.4.2.5. JEZERA VAN UMERENOG KLIMATSKOG POJASA

Tropska jezera

Tropskim jezerima (Riding i Rast, 1989) nedostaje ciklus smrzavanja i otapanja kao kod umerenih vodnih tela, ali pokazuju sezonalnost u pogledu padavina. Osnovna razlika između ova dva tipa jezera su u pogledu recikliranja nutrijenata. U umerenim jezerima ovaj proces je pod velikim uticajem fizičkih, a kod tropskih jezera bioloških faktora. Kod tropskih jezera se ne dešavaju sezonska mešanja vode u koloni i razvija se trajni anoksični hipolimnion sa dosta hranljive materije. Ako su hranljive materije dostupne, one će u vodenom stubu imati tendenciju da se brže recikliraju zbog više temperature na kojoj je intenzivnija biološka aktivnost i brže su enzimske reakcije. Cvetanja algi se u ovim jezerima mogu desiti bilo kada u toku godine i to najviše cijanobakterija jer im za rast nije neophodna velika količina nitrata i fosfata (veoma nizak N:P odnos).

Jezera polarnog i subpolarnog regiona

Površina **jezera polarnog i subpolarnog regiona** je pokrivena snegom i ledom tokom dužeg perioda godine. Polarna jezera ostaju zaleđena tokom čitave godine i ne dolazi do mešanja vode – drugim rečima ona su amiktična. Deblji sloj leda ograničava prodor svetla, turbulenciju vode, a samim tim i razvoj algi. Tanji led će dovesti do cvetanja algi. Iako je svetlost ograničavajući faktor, određena populacija planktonskih mikroalgi se može održati neposredno ispod leda zahvaljujući lokalnim temperaturnim promenama. Takvo zagrevanje vode ispod sam površine leda omogućuje lokalno kretanje vode što algama obezbeđuje dotok mineralnih materija i njihov masovniji rast.

2.5. Močvare

Močvara je prirodna tvorevina na kopnu, vanredno bogata slatkim ili slanom vodom koja može da pokriva tle ili je ono njome jako zasićeno veći deo godine (Dukič&Gavrilović, 2008; Slika 4). Za **močvare** možemo reći da predstavljaju vezu između vodenog i kopnenog života. Sezonske močvare mogu biti vodene sredine tokom jednog dela i terestrične sredine tokom drugog dela godine (Christon, 2019). Močvare predstavljaju zemljište koje je zasićeno vodom ili zemljište sa stajaćom vodom čija je dubina najčešće

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

manja od jedan metar sa značajnim površinama prekrivenim emerznom i flotantnom vegetacijom (Doddson, 2004). Javljuju se na svim kontinentima, sem Antartika. U močvarama se nalazi zajednica mikroorganizama koja dosta nalikuje onoj u plitkim, nestratifikovanim jezerima. Od takvih jezera se razlikuju po nešto ekstremnijim uslovima sredine. Ovi ekosistemi su najugroženiji od antropogenog uticaja koji se ogleda u isušivanju ili potapanju, iako je glavni problem eutrofizacija.



www.shutterstock.com - 1656794575

Slika 4. [Močvara](#) (ovde će ići neka druga fotografija)

Iako sunčevo zračenje u močvarama prodire do sedimenta podržavajući rast epipelnihi algi, nivo svetla može biti manji od očekivanog. To se dešava zbog zamućenosti vodenog stuba usled resuspenzije sedimenta koja je izazvana vetrom i prisustvom makrofita koje svojom senkom mogu značajno smanjiti dostupnu količinu svetlosti. Močvare se odlikuju: prisustvom stajaće vode tokom bar jednog dela godišnjeg ciklusa, sredinama bez kiseonika, postojanjem organskih i neorganskih redukujućih supstanci, prisustvom organizama koji mogu da opstanu u uslovima smene sušne i faze plavljenja, intenzivnim procesima mikrobiološke degradacije itd.

2.5.1. Uloga močvara u protoku energije i materije

Močvare imaju veliki regionalni značaj sa stanovišta protoka energije i materije i ekološki su važne u odnosu na stabilnost i očuvanje biodiverziteta (Pokorni i sar., 2002a). Stabilizujući uticaj na okolnu sredinu močvara ostvaruje na nekoliko načina: (i) Močvare deluju kao energetski pufer, pri čemu se većina energije sunčevog zračenja rasipa u obliku latentne toplote isparavanja; (ii) one deluju kao slivnik za atmosferski CO₂ i usporavaju njegovo oslobađanje u atmosferu. Ovo se dešava zato što je akumulacija organskog ugljenika u takvim sistemima veća od njegove mineralizacije tj. razgradnja organskih jedinjenja je usporena što dovodi do formiranja treseta ili akumulacije organskog detritusa; (iii) kao zone akumulacije hranljivih materija, močvare deluju kao

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

zaštitni sloj između kopna i vode štiteći površinske vode od povećanog unosa hranljivih materija; (iv) U oblastima zagađenih teškim metalima, akumulacija metala u močvarama puferiše značajniji porast jona metala u susjednim otvorenim vodama; (v) Kao regioni visokog kapaciteta zadržavanja vode, močvare puferišu ispuštanje vode sa područja sliva i daju važan doprinos u kontroli poplava.

U močvarama su dominantne zajednice makrofita, koje vrlo često predstavljaju kompetitore algama i ne dopuštaju im da se razviju u većem broju. Mikrobiološka istraživanja močvara uglavnom se odnose na alge koje čine glavninu mikrobne biomase na ovim staništima. One mogu biti grupisane u nekoliko različitih zajednica: **epipelne alge** (žive na mekim sedimentima), **epifitne alge** (rastu na emerznim ili submerznim delovima viših biljaka), **metafiton** (filamentozne zelene alge koje plutaju na vodi poreklom od epifitnih algi) i **fitoplankton** (slobodno lebdeće alge koje mogu biti poreklom iz epipelne ili epifitne zajednice). Epipelne i epifitne alge su zapravo deo veće zajednice zajednice bentosnih algi **perifitona**.

2.5.2. Tipovi močvarnih staništa

Goldsborough i Robinson (1996) su predložili da se močvare mogu podeliti na četiri kvazi stabilna stanja, koje karakteriše dominacija pojedinih grupa algi. Ova različita stanja močvare se razlikuju u primarnoj produkciji algi, prisustvu vodenih makrofita i nivou sekundarne produkcije. Praćenjem sezonskih promena vezanih pre svega za vodni režim mogu se uočiti četiri stanja močvara u zavisnosti od doba godine.

- „Suvo–stanje“ močvare podrazumeva postojanje eksponiranih vlažnih sedimenata i dominaciju epipelne zajednice algi. Ovo stanje se razvija u uslovima niskog nivoa vode i sušnog perioda, pri čemu je zemljište uglavnom zasićeno vodom. Tipično je za isušivanje već postojećih močvara ili za početak stvaranja nove močvare. Rast vodenih makrofita je slab ili sledi njihova smena biljkama karakterističnim za vlažne livade. Dostupnost svetla je visoka što doprinosi bržem isušivanju močvara.
- „Otvoreno–stanje“ močvare postoji kada se suve močvare ispune vodom koje ima dovoljno da formira vodenu kolonu karakterističnu po turbulenciji i prisustvu vodenih makrofita. Snaždevenost nutrijentima i prisustvo vodenih makrofita stvara uslove za dominaciju epifitona. Ovakve uslove karakteriše umerena primarna produkcija. Porastom makrofita uskraćuje se svetlost epifitonu što vodi ka njegovoj zameni od strane fitoplanktona kada je močvara u fazi kada liči na jezerske ekosisteme.
- „Zaklonjeno–stanje“ močvara - ekološki uslovi se ogledaju u visokoj koncentraciji nutrijenata, stabilnoj vodenoj koloni koja je zaklonjena makrofitama i priobalnom vegetacijom. To pogoduje razvoju epifitona i njegovom odvajanju

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

pri čemu se formiraju gusti tepisi metafitona. Daljem razvoju metafitonskih tepiha koji su sastavljeni od zelenih algi kakva je *Cladophora* pogoduje visok nutrijentni status, visok intezitet sunčevog zračenja, alkalni pH, visoka koncentracija kalcijuma i nizak N:P odnos.

- Močvare u „stanju – jezera“ imaju visoki vodostaj sa zamućenim vodenim stubom u kojem su brojni predstavnici zajednice fitoplanktona. Visoka abundanca algi uslovljava slabo prodiranje svetla u dublje slojeve. Nedostatak svetla sprečava razvoj ostalih zajednica. Ovo stanje močvara nastaje pri brzom dotoku veće količine vode što uslovljava nestanak makrofita i brz razvoj fitoplanktona.

Močvare su sa stanovišta očuvanja biodiverziteta i uloge u ekologiji planetarno važni ekosistemi sa velikom primarnom produkcijom koja dobrim delom potiče od mikroskopskih algi. Heterotrofni članovi mikrobiološke zajednice (bakterije, gljive) pojavljuju se u ovim ekosistemima kao primarni konzumenti koji dalje služe kao hrana protozoama, nematodama, kopepodama, anelidama, rotiferama i larvama krupnijih beskičmenjaka.

Ribnjaci i tresetišta predstavljaju ekosisteme koji najviše nalikuju močvarama. Oni imaju svoju osobenu algalnu zajednicu. U tresetištima obično dominiraju zelene flagelatne i končaste alge i rod *Euglena*; u oligotrofnim ribnjacima vatrene i zlatne alge, a u eutrofnim ribnjacima zelene kokalne i monadne, silikatne i modro-zelene alge.

2.6. Reke i potoci

2.6.1. Osobnosti lotičkih sistema

Reke, potoci i estuari su brzo ili sporo-tekuće vode koje spadaju u lotičke sisteme. Oni se odlikuju: velikom turbulencijom vode, većom protočnošću, odsustvom termičke ili hemijske stratifikacije, pojavom fluktuacija u vodostaju. Kod potoka je samo dno dobro aerisano i sa dosta svetla što pruža povoljne uslove za razvoj mikrobioloških zajednica sa dominacijom algi. Takođe ne treba zanemariti značajne fluktuacije u pogledu koncentracija rastvorene i čestične organske materije koje dospevaju sa područja sliva.

Ove karakteristike potoka kao lotičkih sistema omogućavaju razvoj bentosnih zajednica mikroorganizama i biofilmova sačinjenih od algi (silikatne, filamentozne zelene, modro-zelene) i bakterija. Bentosne alge su odgovorne za visoku primarnu produkciju potoka, transformaciju nutrijenata, ali i za stabilizaciju dna odnosno sedimenta.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Zbog napomenute hidrologije i značajnog uticaja materijala koji dolazi sa okolnog zemljišta, potoci su podložni čestim promenama u pogledu kvaliteta vode. Na ove promene posebno alge reaguju veoma brzo što ih čini pogodnim za nadzor kvaliteta vode lotičkih vodotoka.

Tok vode utiče na formiranje zajednica mikroorganizama, tako što ograničava razvoj fitoplanktona i pospešuje razvoj bentosnih organizama. Karakteristike toka vode jesu: brzina i tip strujanja (laminarni ili turbulentni). Brzina je važna sa biološkog stanovišta, jer obezbeđuje uslove za održavanje zajednice silikatnih algi i omogućava transport velike količine nutrijenata duž toka.

Novija istraživanja govore da pod određenim hidrološkim uslovima u rekama može opstati fitoplanktonska zajednica čija se biomasa može meriti sa biomasom jezera umerene trofičnosti.

Osnovni parametri protoka vode u rekama koji su važni za mikroorganizme su brzina toka i način kretanja vode koji se može okarakterisati već pomenutim Rejnoldsovim brojem. U većini reka ovaj broj ima veliku vrednost što govori da je strujanje vode u glavnoj toku turbulentno. Laminarno strujanje se sreće pri malim brzinama vode. Ono omogućava dobro snabdevanje hranljivima materijama i održava mikroorganizme u vodenoj suspenziji.

Prilikom kretanja vode ona se sudara sa "objektima" pri čemu se na samoj površini objekata pojavljuje se takozvani granični sloj. On predstavlja mikrosredinu koja je u neposrednom kontaktu sa ćelijama mikroorganizama čime je omogućena dostupnost nutrijenata iz okoline. Debljina graničnog sloja se kreće od 0,5 do 5 mm što je u obrnutoj vezi sa brzinom vodenog toka.

2.6.2. Uticaj vodenog toka na bentosne mikroorganizme

Korito potoka i reka je veoma dinamična sredina lotičkih ekosistema. Ovde se biogeochemijske transformacije u velikoj meri sprovode u biofilmovima odnosno mikrobim zajednicama koje su zajedničkim matriksom povezane sa sedimentom [Jones i Mulholland, 1999; Fellovs et al., 2006; Battin i sar., 2008; Battin i sar., 2016]. Biofilmovi kontrolišu kritične procese ekosistema, omogućavaju ulazak organskog ugljenika u lanac ishrane i utiču na količinu ugljenika koji se transportuje nizvodno [Battin i sar., 2008; Tank i sar., 2010; Battin i sar., 2016]. <https://doi.org/10.1002/2016WR019041>

Strujanje vode deluje na mikrobiološke biofilme sedimenta potoka i reka tako što najpre odvaja pojedinačne ili grupe ćelija iz perifernih delova zajednice i tako ih uvodi u glavni tok (Slika 5). Oni privremeno postaju planktonski organizmi i rečni tok ih odnosi do ekspaniranih površina. Na tim mestima oni ulaze u sastav već postojećih biofilmova

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

(proces imigracije), ali oni mogu biti uključeni u svaku fazu stvaranja biofilma i to od inicijalnog pričvršćivanja do klimaks zajednice. Mikroorganizmi koji se odvajaju od biofilma (proces emigracije) na svim tačkama duž biofilma ulaze u vodenu kolonu i dostupni su za dalju kolonizaciju biofilma nizvodno.

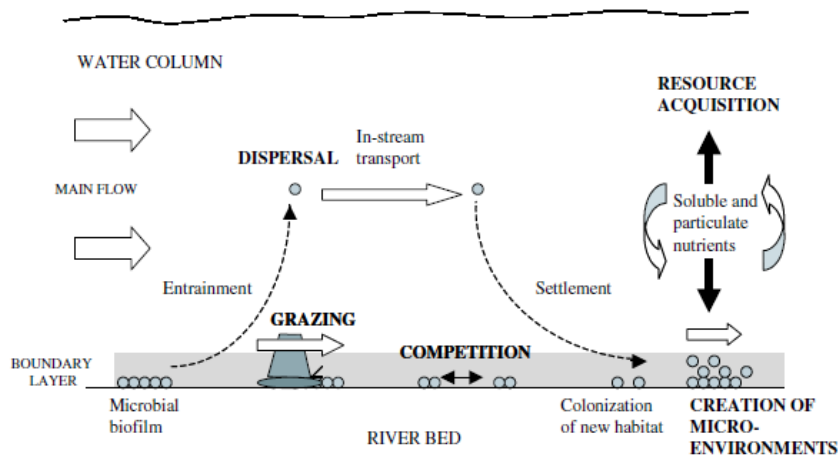


Figure 2.14 Effects of river flow on benthic microorganisms. The majority of benthic microorganisms occur in a zone of reduced flow, the boundary layer (shaded), where most of the microbial interactions occur. This layer extends to a thickness of about 5 mm, depending on main flow rate and surface roughness. Dispersal of microorganisms takes place within the main current (\rightleftarrows), to which large grazing invertebrates are also exposed

Slika 5 Efekat rečnog toka na bentosne mikroorganizme

Neki mikroorganizmi koriste proces disperzije putem rečnog toka, kako bi se udaljili od nepovoljnih staništa i/ili kako bi izbegli potencijalne predatore.

2.6.2.1. Snabdevanje nutrijentima

Za rast i razmnožavanje bentosnih mikroorganizama neophodno je kontinuirano snabdevanje nutrijentima. Hranljive materije vode poreklo uglavnom iz vodenog stuba i uključuju različite oblike neorganskih i organskih jedinjenja. Brzina vodenog toka utiče na snabdevanje nutrijentima tako što ometa transport materija između vode i bentosne zajednice. Dominantno turbulentno strujanje će omogućiti dobro snabdevanje bentosnih mikrobioloških zajednica rastvorljivim hranljivim materijama, dok će nerastvorene čestične materije najvećim delom ostati u vodenoj suspenziji nedostupne.

Usporavanje vodenog toka postoji na svim površinama unutar akvatične sredine usled sila otpora na koje nailaze kontakni slojevi vode. Preko dodirnog tj. graničnog sloja obavlja se razmena materija između ćelija mikroorganizama i spoljašnje vodene sredine. Pri manjim brzinama vodenog toka mikroorganizmi sporije usvajaju hranljive materije zbog veće debljine graničnog sloja. Pri većim brzinama toka granični sloj je tanji, a nutrijenti se brže usvajaju. Rast mikrobiološke zajednice pri većim brzinama toka je uravnotežen jer pored bržeg porasta biomase istovremeno dolazi do odvajanja pojedinih delova biofilma i transporta u nizvodni deo toka.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

2.6.2.2. *Biotički odnosi mikroorganizama u lotičkim sredinama*

Kompeticija predstavlja biotički metabolički nepodudaran odnos između različitih vrsta. Brzina toka može kratkoročno ili dugoročno uticati na kompeticiju između različitih vrsta mikroorganizama. Promene brzine toka neposredno ili posredno utiču na pojedine članove mikrobiološke zajednice favorizujući rast populacije one vrste koja je najbolje prilagođena nastalim promenama. Turbulentno strujanje vode koje traje duži vremenski period može usloviti razvoj stabilne zajednice biofilma sa dominacijom dijatomejskih algi. Brzina toka kontroliše brzinu dopremanja posebno značajnih ograničavajućih nutrijenata čime se stvaraju kompetitivni odnosi. Organizmi koji rastu uzvodno mogu uticati na dostupnost takvih nutrijenata u sredinama nizvodno ili putem njihovog usvajanja ili porastom svoje biomase čime mogu smanjiti brzinu toka i time smanjiti usvajanje hranljivih materija u donjem delu toka.

Rast mikrobne zajednice u formi biofilma na čvrstim površinama u vodenoj sredini stvara uslove za pojavu **predatora** kao što su protozoe i beskičmenjaci. Različita istraživanja su pokazala da povećanje brzine toka dovodi do smanjenja uticaja predatora na populaciju plena. Odnosi između organizama koji pasu i bentosnih algi mogu takođe biti pod uticajem vodenog toka. Laboratorijska i istraživanja in situ su pokazala da ispaša bentosnih algi od strane puževa, larvi drugih invertebrata i rakova je visokog intenziteta pri malim brzinama vodenog toka, ali da se smanjuje sa povećanjem brzine. Sile vodenog toka na krupnije predatore deluju tako što ih odvajaju od podloge i smanjuju njihov pritisak na rast mikrobioloških bentosnih zajednica.

Zone u potocima i rekama gde su brzine toka nešto manje (granični sloj je debljine oko 5 mm iznad dna) omogućavaju formiranje mikrosredina, gde će moći nesmetano da žive alge, protozoe, bakterije i invertebrate bez velikog uticaja vodenih struja.

2.6.3. Hidrologija reke

Opšte karakteristike pojedinih vodotokova i reka su određene količinom vode sliva i geologijom podloge. Karakteristike rečne sredine se menjaju duž toka vodnog tela – što podrazumeva sukcesiju rukavaca ili naizmeničnu smenu šljunčanih korita i dubokih bazena koji stvaraju različita mikrostaništa.

Reke se mogu smatrati jedinstvenom celinom odnosno kontinuumom kod kojeg se promene bioloških i fizičkih osobina dešavaju duž linearnog gradijenta. Koncept rečnog kontinuumu razvijen je još osamdesetih godina prošlog veka od strane Vannote i saradnika (1980) sa ciljem da se povežu aktivnosti primarnih producenata, heterotrofa i dostupnost ugljenika duž celog rečnog toka. Koncept rečnog kontinuumu (KRK):

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

- karakteriše lotičke sisteme kao međusobno povezani sistem tokova sa kontinuumom koji longitudinalno povezuje fizičke, hemijske i biološke parametre;
- opisuje biološke promene među beskičmenjačkim, mikrobnim i makroalgalnim biotama u odnosu na dostupnost spoljašnjeg ugljenika i mogućnost za primarnu produktivnost;
- povezuje uticaj organizama koji se nalaze uzvodno na fizičko-hemijske uslove i zajednice smeštene nizvodno.

U gornjem toku reke (slika 6), postoji veliki priliv alohtonog organskog materijala, a aktivnost beskičmenjaka i mikroba je uglavnom vezana za njegovu fizičku i biohemijsku razgradnju. Primarna produkcija bentosnih algi ne doprinosi mnogo stvaranju organskog ugljenika zbog senke koju stvara okolna vegetacija. Respiracija na nivou sistema premašuje primarnu produkciju odnosno $P:R < 1$. Nizvodno se degradacija alohtone organske materije smanjuje, a primarna produkcija bentosnih algi se povećava zbog veće količine svetlosti ($P:R > 1$). Mnogi lotički sistemi ne napreduju iza ove tačke, ali u velikim rekama (većim od šestog reda) dolazi do razvoja fitoplanktona i populacije zooplanktona. Iako je u ovoj situaciji rečni sliv upotpunosti otvoren prema svetlu, velika količina finih čestica i velika dubina sa resuspendovanim sedimentima ograničava produktivnost fitoplanktona. Vodena kolona je zamućena, sa ograničenim prodorom svetlosti, a nivo primarne produkcije ponovo pada ispod nivoa respiracije sistema ($P: R < 1$).

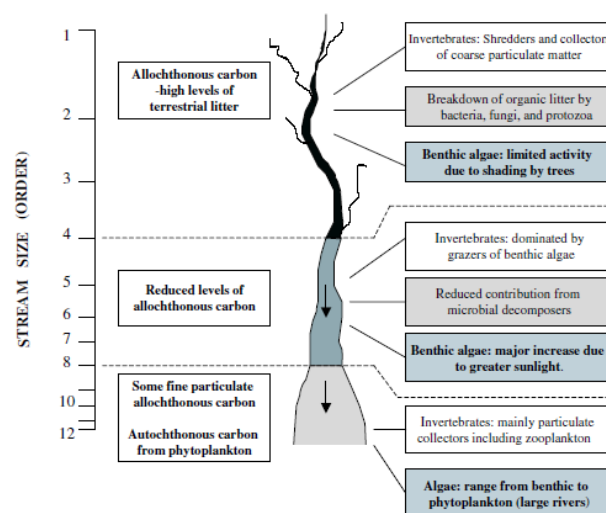


Figure 2.17 Diagrammatic representation of the river continuum concept. Different orders of stream size are designated in relation to size of channel and flow characteristics. The stream illustrated is 12th order, with a three phase transition (shaded regions). Continuous flow of water delivers high levels of external (allochthonous) carbon to the upper reaches (orders 1-4). This is gradually degraded, with increased proportion of carbon (autochthonous) from benthic algae (orders 4-8) then phytoplankton (orders 8-12). Microorganisms are initially dominated by heterotrophs, then benthic algae, with phytoplankton becoming an important component in the lower reaches of large rivers, river flow, (→) (based on a figure from Vannote *et al.*, 1980)

Slika 6 Slikovni prikaz koncepta [rečnog kontinuuma](#)

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Koncept rečnog kontinuuma je podstakao brojna istraživanja u lotičkim sistemima i doveo do raznih hipoteza među kojima je i recikliranje hranljivih sastojaka. Ove stalne i periodične aktivnosti po dužini vodotoka nazivaju se spiraling nutrijenata (Elwood i sar., 1981).

Promena brzine struje duž rečnog toka dovodi do razlika u sedimentaciji i akumulaciji organskog materijala, uključujući tu „drift“ i „detritus“. Termin „drift“ koristi se za žive bentosne beskičmenjake i alge koji su se oslobodili odnosno izgubili vezu sa podlogom. Oni se prenose nizvodno do mesta koja su povoljna za vezivanje i gde će im nutrijenti biti dostupniji. „Detritus“ se sastoji od odumrlih organskih čestica za koje su pričvršćene epifitne bakterije, gljivice, protozoe i rotifere. Ribe i beskičmenjaci se hrane driftom i detritusom obezbeđujući tako njihovo optimalno korišćenje.

2.7. Estuari

Estuar je delimično zatvoreno priobalno vodno telo gde se slatka voda iz reka meša sa slanom vodom iz okeana (Slika 7). Estuar i okolna zemljišta su mesta prelaska sa kopna na more. Iako su pod uticajem plime i oseke, zaštićene su od pune snage okeanskih talasa, vetrova i oluja kopnenim oblicima kao što su ostrva ili poluostrva.

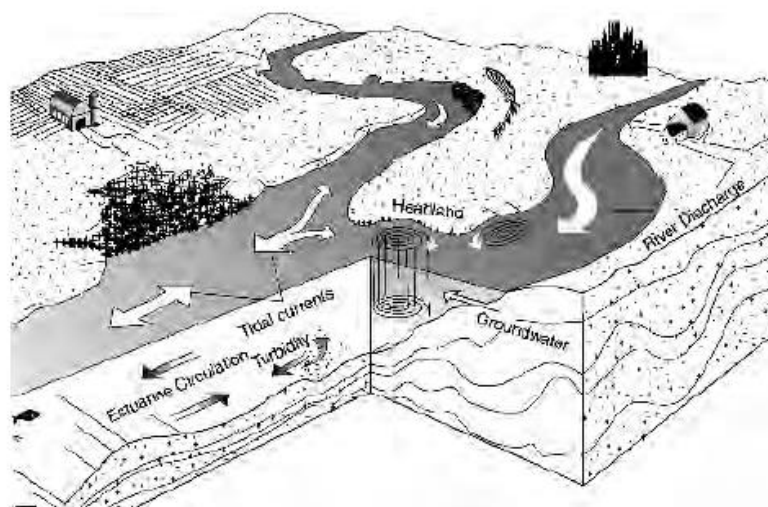


Figure 2.18 Schematic diagram of the upper reaches of an estuary, emphasizing freshwater input into the system. A number of physical processes contribute to the temporal and spatial variability of the estuarine system. In addition to tidal currents and river discharge, which interact to determine periodic bulk flow, water movement is also caused by vertical estuarine circulation (within the water column), tide-induced residual circulations at the headlands, groundwater inflow, and run-off from surrounding land at times of high rainfall. Anthropogenic input (agricultural, industrial, and domestic) contributes to the river discharge. Physical and climatic processes controlling water movement modulate the freshwater/saltwater exchange with fringing marshes, mudflats and the adjoining coastal region. Biological transport within the pelagic zones can be passive (e.g., phytoplankton) or active (e.g., fish migration). Mudflats and marshes provide important sites for benthic microorganisms, including bacterial and diatom populations (based on a figure from Geyer *et al.*, 2000)

Slika 7 Šematski prikaz estuara

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Estuari su među najproduktivnijim ekosistemima na zemlji, stvarajući svake godine više organske materije nego ekosistemi poput šuma, livada ili poljoprivrednog zemljišta. Zaštićene vode estuara podržavaju jedinstvene zajednice biljaka i životinja. U pogledu najznačajnijih ekoloških faktora koji određuju strukturu živog sveta pa i mikrobioloških zajednica su velika količina neorganskih i organskih materija koje donosi rečni tok, uticaj plime i oseke i gradacija saliniteta.

Estuari su samo delimično slatkovodna vodna tela. Slatku vodu dobijaju iz reka, koja razblažuje morsku vodu kojom su ispunjeni, te se dobija nešto veći salinitet u odnosu na tipične slatkovodne ekosisteme – **brakična voda**. Zajednice mikroorganizama su slatkovodne ili brakične u zavisnosti od perioda godine. Tokom kišnog perioda, povećava se priliv slatke vode u estuare i dolazi do dominacije bakterioplanktona, a potiskivanja fitoplanktona. Niska produktivnost fitoplanktona je izazvana manjom količinom svetla i povećanim turbulentnim kretanjima, dok je primarna produkcija produktivnost bakterioplanktona povećana zbog priliva alohtone organske materije. Tokom sušnog perioda, situacija je obrnuta i dominantan je fitoplankton.

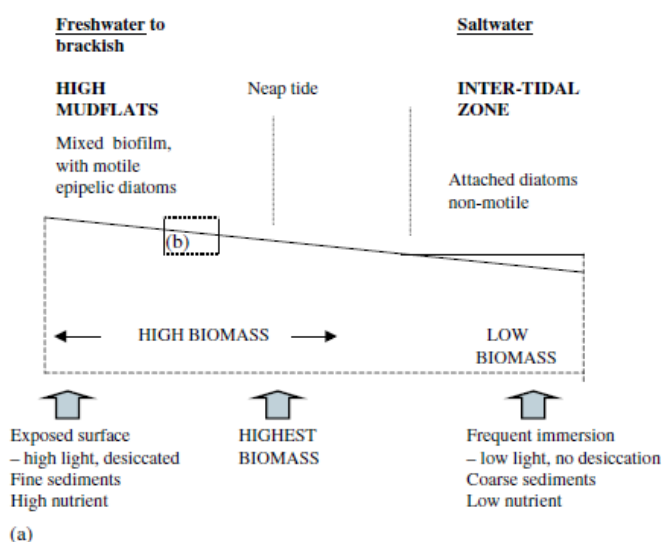
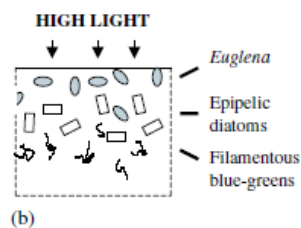


Figure 2.19 Occurrence of microphytobenthos in estuarine inter-tidal mudflats: (a) growth of diatoms may be limited in the high mudflats due to desiccation and high light levels, so highest biomass tends to occur lower down towards the inter-tidal zone; (b) detail from the surface biofilm (based on information from Underwood and Kromkamp, 1999)



Slika 8. Struktura mikrofitobentosa u estuarima na muljevitim površinama koji se nalaze u zoni plime i oseke

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

2.7.1. Staništa i zajednice

Estuari imaju dobro definisanu zonalnost, slično jezerima i rekama koje poseduju jasnu pelagijsku, bentosnu, i litoralnu zonu. Oni često imaju muljevite površine i ritove u zoni plime i oseke. Intezivno i stalno mešanje rastvorljivih hranljivih sastojaka i organskih čestica između ovih zona je posredovano delovanjem plime i oseke, što rezultuje veoma produktivnom sredinom sa izraženim biodiverzitetom.

Estuare karakterišu dve glavne grupe primarnih producenata - fitoplankton (u pelagijskoj zoni drenažnih kanala) i mikrofitobentos (na potopljenim sedimentima i eksponiranim muljevitim nanosima).

2.7.2. Pelagijska zona

Pelagijska zajednica estuara sadrži čitav niz biota koje su karakteristični za jezera. Dominira fitoplankton kojim se hrani (pase) krupniji zooplankton (uglavnom kopepode), manji organizmi poput juvenilnih kopepoda i heterotrofnih praživotinja kao što su flagelate i cilijate (Undervood i Kromkamp, 1999). Bentosni organizmi koji se takođe hrane algama su posebno važni u estuarskim sistemima, koji su obično plitki i karakterišu ih intenzivna bentosno-pelagijska sprega. U mnogim estuarima (Burnei, 1994) periodični intenzivni rast fitoplanktonske zajednice rezultuje u godišnjim fluktuacijama rastvorenog organskog ugljenika (DOC). Ove fluktuacije su više povezane sa varijacijama u primarnoj produkciji algi (autohtoni DOC) nego sa prilivom materijala iz pritoka (alohtoni DOC). U ovim estuarima koncentracije DOC prate sezonski cikluse primarne produkcije koje su povezane sa letnjim maksimumom ili sa prolećnim ili jesenjim cvetanjem fitoplanktona.

Salinitet je važan faktor koji određuje sastav estuarskog fitoplanktona, sa dominacijom slatkovodnih vrsta u gornjim regionima (dijatomejske alge). Idući prema moru povećava se udeo marinskih algi i to pre svega dinoflagelata i primneziofita. Eurihaline vrste algi poput dijatomeje *Skeletonema costatum* su veoma česte u čitavom estuarskom ekosistemu.

2.7.3. Sediment i muljeviti nanosi

Zajednice algi (mikrofitobentos) se javljaju na površini potopljenih sedimenata, u vodenom stubu, i na izloženim muljevitim nanosima, gde formiraju diskretni algalni biofilm (Undervood i Kromkamp, 1999; Smith i Undervood, 2000). Biofilmovi algi su važni na razne načine, uključujući razmenu materijala između sedimenta i vodenog stuba, stabilizaciju sedimenta i produktivnost estuara.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Razmena između sedimenta i vode. U plitkim regionima estuara, gde postoji aktivna fotosinteza na dnu vodenog stuba, alge utiču na razmenu između sedimenta i vode na dva glavna načina (Nedvell i sar., 1999). Prvo, alge mogu efikasno da uklanjaju azot i fosfor koji se transportuju prema gore, smanjujući efluks amonijaka i fosfatnih jona u vodeno telo. Drugo, stvaranje kiseonika produbljava oksični sloj do dna vodenog stuba i može uticati na procese nitrifikacije, denitrifikacije i razmena rastvorenog organskog fosfora.

Stabilizacija nanosa. Gotovo svi sedimenti prirodnih voda pokazuju dokaze o biološkoj aktivnosti, i stvaranju ćelijskih eksudata od strane brojnih organizama što je od velike važnosti za stabilizaciju nanosa. Bentosne dijatomeje su posebno važne u ovom procesu jer proizvode obilne količine polimera (sluzi). Pored dijatomeja, veliki značaj imaju i bakterije i modro-zelene alge (Vetherbee et al., 1998).

Produktivnost estuara. Bentosne alge daju glavni doprinos fiksaciji ugljenika u estuarima, doprinoseći i do 50% od ukupne primarne produkcije (Undervood i Kromkamp, 1999).

2.7.3.1. Varijacije u građi algalnih biofilmova

Kvalitativan i kvantitativan sastav zajednica algi znatno varira u zavisnosti od dubine (unutar supstrata), prostorne distribucije i vremenskih varijacija.

Dubinske varijacije Iako su bentoske zajednice algi uglavnom prisutne u nekoliko milimetara ispod površine sedimenta one mogu da se pronađu i u dubljim slojevima. Ove alge su prisutne kod mnogih muljevutih nanosa i mekih sedimenata u zoni delovanja talasa. Na tim staništima dominiraju epipelne dijatomeje koji nastanjuju muljevite nanose. Epipelne dijatomeje su pokretne i mogu migrirati kroz talog kao odgovor na delovanje plime i dnevne ritmove pojavljujući se na površini sedimenta tokom sušnog perioda i migrirajući ispod same površine kada se sediment potopi. Epipelne dijatomeje se kreću kroz sredinu tako što proizvode i izbacuju van ćelije jedinjenja bogata ugljenim hidratima uglavnom različite dugolančane heteropolimere. Pod uslovima jakog osvetljenja, pojavljuje se dobro definisana zonalnost u epipelnom biofilmu, sa definisanim populacijama *Euglena*, epipelnim dijatomejama, i filamentnoznim modro-zelenim algama (Slika 8b).

Prostorne varijacije. Pored vertikalne heterogenosti, bentoske zajednice algi takođe pokazuju znatnu prostornu heterogenost po površini sedimenta - kako u pogledu ukupne biomase, tako i u pogledu sastava vrsta (Undervood i Kromkamp, 1999). Ove prostorne varijacije su složene i zavise od niza međusobno povezanih faktora, uključujući veličinu čestica sedimenta, sadržaj hranljivih sastojaka, sadržaj vode, salinitet i pokretljivost supstrata. Ekspozirani estuarski sedimenti mogu biti izloženi dugim

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

periodima isušivanja, sa intermitentnim poplavama slatke i morske vode - stvarajući veoma složenu životnu sredinu. To se vidi na slici 8a, koja ilustruje promene duž obale u zoni mulja. Muljeviti nanosi se sastoje od finih, kohezivnih, visoko hranljivih sedimenata koji podržavaju velike populacije epipelnih dijatomeja. Tranzicijom prema krupnijim česticama peščanog supstrata u zoni plime i oseke dolazi do smene od epipelnih, pokretnih vrsta dijatomeja do sitnih, gotovo nepokretnih dijatomeja koji proizvode vanćelijske polimere za pričvršćivanje.

Ukupna biomasa i produktivnost u epipelnog biofilma postiže maksimalnu vrednost na srednjoj poziciji između visokog mulja i zone plime i oseke (slika 8a). Ova pozicija je kompromis između uslova koji ograničavaju rast kao što je mala količina hranljive materije, smanjeno svetlo (često potapanje) u zoni plime i oseke i produženih perioda isušivanja koji su praćeni intenzivnim zračenjem na visokom mulju.

Vremenske varijacije. Bentosne zajednice algi pokazuju značajne razlike u biomasi kako u unutar i između godišnjih ciklusa, sa izmerenim koncentracijama hlorofila u rasponu od 0,1–460 mg•g⁻¹ sedimenta. Iako su razne studije o ovoj zajednici pokazale porast u biomasi epipelnih dijatomeja tokom letnjih meseci, maksimumi biomase se javljaju u neko drugo vreme godine – varirajući zajedno sa spoljašnjim faktorima kao što su periodi isušivanja i poplave. Ispostavlja se da su epipelne zajednice ipak pod većim uticajem planktona nego sezonskih promena (Undervood i Kromkamp, 1999).

2.8. Negativni i ekstremni uslovi u slatkovodnim sredinama

Slatkovodni ekosistemi se odlikuju veoma različitim uslovima sredine, koji u svakom trenutku mogu postati limitirajući za opstanak neke grupe mikroorganizama. Tada uslovi od štetnih prelaze u ekstremne i tu se nalaze samo stenovalentne vrste odnosno one koje su najbolje prilagođene datim uslovima.

Neki od štetnih, koji se i prirodno pojavljuju kao česti stresogeni faktori u slatkovodnim ekosistemima, te menjaju sastav mikrobnih zajednica jesu: koncentracija kiseonika, dostupnost nutrijenata, svetlost, temperatura, pH, dostupnost vode, hidrostatički pritisak, organsko i neorgansko zagađenje.

2.8.1. Kiseonik

Mikroorganizmi se u pogledu odnosa prema kiseoniku mogu podeliti na nekoliko grupa. **Aerobi** mogu da rastu u prisustvu kiseonika u koncentraciji od 20% kakva postoji u atmosferi koristeći ga kao krajnjeg akceptora elektrona u metabolizmu koji se zove aerobna respiracija. Posebna podgrupa aeroba su **mikroaerofili** za čiji je optimalan rast potrebna manja koncentracija kiseonika (od 2 do 5%) u takozvanim mikrooksičnim

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

sredinama. To je zbog ograničenog kapaciteta tih mikroorganizama da koriste kiseonik ili zbog toga što se u njihovim ćelijama nalaze enzimi koji su osetljivi na kiseonik. Takve sredine se javljaju na granici između aerobnih i anaerobnih sredina. U pitanju su obično bakterije (npr. rod *Spirillum*) ili pojedine vrste protozoa koje se javljaju u dubljim slojevima jezera gde dolazi do pada koncentracije kiseonika usled procesa biodegradacije (vrste rodova *Loxodes*, *Spirostomum* i *Frontonia* (Febnchel, 2014)

Neki mikroorganizmi ne mogu da koriste kiseonik za respiraciju i oni se nazivaju **anaerobi**. Postoji dve podgrupe anaeroba. **Aerotolerantni anaerobi** koji mogu da tolerišu i rastu u prisustvu kiseonika iako ga oni ne koriste i **obligatni anaerobi** čiji rast je inhibiran ili je kiseonik za njih toksičan. Anoksična staništa (odnosno staništa bez slobodnog kiseonika) su veoma zastupljena u prirodi. Ona se u površinskim vodama mogu pronaći u sedimentima, tresetištima, močvarama, potopljenom zemljištu. Zbog velikog broja staništa anaerobi su veoma česti u prirodi i veoma divergentni. Obligatni anaerobi predstavljeni su velikim brojem bakterija i arhea, malim brojem vrsta gljiva i nekoliko vrsta protozoa.

Prisustvo kiseonika može predstavljati problem za određene vodene organizme, dok povećane koncentracije mogu uticati na važne procese na nivou jednog vodenog ekosistema. Azotofiksacija je mikrobiološki proces koji se odvija zahvaljujući enzimu nitrogenazi. Čak i veoma niske koncentracije kiseonika mogu inhibirati ovaj važan proces jer je nitrogenaza nefunkcionalna u njegovom prisustvu. Masovni razvoj algi epilimniona prati intenzivan proces fotosinteze koja izaziva supersaturaciju kiseonikom i time inhibira nitrogenazu pa samim tim i proces azotofiksacije.

2.8.2. Dostupnost nutrijenata

Dostupnost neorganskih nutrijenata (azot, fosfor, silicijum, mikroelementi) je uglavnom mala i ima za posledicu spor, ograničen rast i autotrofnih i heterotrofnih mikroorganizama. Velika ograničenja postoje i u pogledu dostupnosti organskih supstrata za heterotrofne mikroorganizme. U vodenoj koloni većine jezera i reka najveći broj bakterija se nalazi u stanju gladovanja te oni veoma često prelaze u dormantno stanje što objašnjava razliku između ukupnog i broja vijabilnih mikroorganizama. Ovakvi ekološki uslovi su kod slatkovodnih organizama tokom evolucije razvijali mehanizme koji im omogućuju korišćenje nutrijenata u uslovima njihove niske dostupnosti.

U većini vodnih tela dominantni mikroorganizmi su aerobni ili fakultativno anaerobni heterotrofi od kojih većina pripada rodu *Pseudomonas*. Ovakve bakterije opstaju i rastu u uslovima veoma niske koncentracije nutrijenata. Dokazi za postojanje ekstremnih uslova u pogledu dostupnosti nutrijenata su sledeći:

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

- ukupan broj bakterija u sedimentima je u direktnoj korelaciji sa količinom ukupnog organskog ugljenika
- brojnost bakterija i njihova metabolička aktivnost koja se meri usvajanjem glukoze ili inkorporacijom timidina je u vodenim ekosistemima 10 do 1000 puta niža nego u okolnom zemljištu ili sedimentima površinskih voda.

2.8.3. Svetlost

Visoki nivo sunčevog zračenja je relativno česta situacija kod većine slatkovodnih ekosistema. Vodeni organizmi su tokom evolucije razvili različite prilagođenosti kako bi smanjili ili u potpunosti izbegli štetan efekat izlaganja jakom svetlu. U vodenim ekosistemima postoje neke sredine gde sunčevo zračenje može biti ekstremno i veoma štetno. To podrazumeva dodirnu površinu na granici faza vazduh-voda i cela vodena kolona kod polarnih jezera. Mnoga polarna jezera su zamrznuta tako da su blizu gornje površine alge usvojile strategiju heterotrofne ishrane kao dodatak ograničenog inputa fotosintetičkog ugljenika i ostalih neorganskih nutrijenata.

Proučavanje biološke raznovrsnosti mikroorganizama, koje u novije vreme podrazumeva primenu savremenih metoda zasnovanih na analizi celokupne DNK izolovane iz uzoraka dovelo je do saznanja da u staništima sa ekstremnim uslovima živi veliki broj različitih vrsta mikroorganizama. Oni su zbog svog načina života dobili naziv **ekstremofili**. Površinske vode podrazumevaju čitav niz različitih mikrosredina među kojima su one koje se odlikuju ekstremnim vrednostima pojedinih ekoloških faktora. Među njima su abiotički faktori kao što su temperatura, pH vrednost, voda, koncentracija soli, hidrostatički pritisak kao i prisustvo zagađujućih materija.

2.8.4. Temperatura

Temperatura utiče na mikroorganizme na dva suprotna načina. Kada temperatura raste, brzina enzimskih reakcija se povećava i rast postaje brži. Međutim, iznad određene temperature, proteini ili druge ćelijske komponente mogu biti denaturisane ili na drugi način oštećene. Za svaki mikroorganizam postoji **minimalna temperatura** ispod koje rast nije moguć, **optimum** odnosno temperatura na kojoj je rast najbrži i **maksimalna temperatura** iznad kojih rast nije moguć. Ove tri temperature, nazvane kardinalne temperature, su karakteristične za bilo koji dati mikroorganizam i one se mogu drastično razlikovati kod pojedinih vrsta.

Na primer, kod nekih organizama optimum je blizu 0° C, dok kod drugih može biti veći od 100° C. Raspon temperature u kojem je moguć rast mikroorganizama se kreće najniže od -15 ° C do najviše 122° C. Nijedan pojedinačni organizam ne može da raste tokom

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

celog ovog temperaturnog opsega. Temperaturna valenca za svaku pojedinačnu vrstu je obično nešto manja od 40°C. Maksimalna temperatura rasta odražava temperaturu iznad koje dolazi do denaturacije jedne ili više esencijalnih komponenti ćelija, odnosno ključnih enzima. Faktori koji kontrolišu minimalnu temperaturu rasta organizma nisu tako jasni. Citoplazmatska membrana mora ostati u polutečnom stanju zbog transporta hranljivih sastojaka i bioenergetske funkcije. Ako se njena struktura naruši do te mere da transport materija ne funkcioniše pravilno ćelija će prestati da raste. Optimalna temperatura rasta odražava stanje u kojem sve ili većina ćelijskih komponenti funkcionišu najvećom brzinom i obično je njena vrednost bliže maksimumu .

Sve mikroorganizme možemo podeliti na četiri klase u odnosu na njihove optimalne temperature rasta: **psihrofili**, čiji su otpimumi niske temperature; **mezofili**, sa srednjim optimalnim temperaturama; **termofili**, kod kojih su optimum visoke temperature i **hipertermofili**, čiji optimalni rast je moguć na vrlo visokim temperaturama (Slika 9).

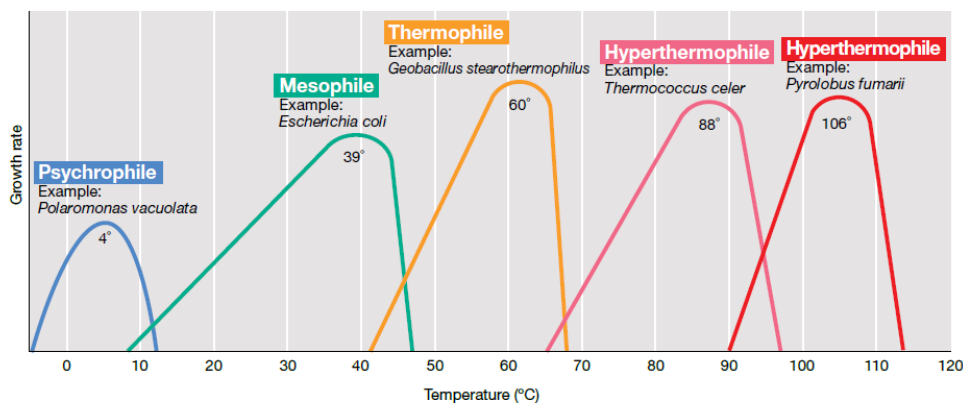


Figure 5.18 Temperature and growth response in different temperature classes of microorganisms. The temperature optimum of each example organism is shown on the graph.

Slika 9 Uticaj temperature na brzinu rasta kod predstavnika pojedinih grupa mikroorganizama (Madigan et al, 2019)

Psihrofili su mikroorganizmi sa optimalnom temperaturom rasta od oko 15°C ili niže, dok je maksimalna temperatura rasta ispod 20° C, a minimalna temperatura rasta od 0° C ili niža. Za razliku od toga, mikroorganizmi koji rastu na 0° C, ali imaju optimum između 20-40° C se klasifikuju kao **psihrotolerantni**. Psihrofili se nalaze u okruženjima koja su stalno hladna i čak ne mogu preživeti ako se izlože umerenim temperaturama. Psihrofilne alge i bakterije često bujaju unutar i ispod morskog leda (smrznuta morska voda koja se formira sezonski) i u polarnim regionima. Takođe se mogu naći na površinama prekrivenih snegom i glečerima kojima daju karakterističnu **obojenost** na površini. Najbolji primer je snežna zelena alga *Chlamydomonas nivalis*. Ovaj organizam sintetiše karotenoidni pigment astaksantin u svojim sporama od čega potiče **crvena boja**. Alga raste unutar snega u obliku zelenopigmentisanih vegetativnih ćelija, a zatim sporuliše. Kako sneg nestaje topljenjem, erozijom i ablacijom (isparavanje i sublimacija), spore se prekoncentrišu na površini. Srodne vrste snežnih algi sadrže različite karotenoidne

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

pigmente, pa samim tim sneg može biti zelen, narandžast, smeđ ili ljubičast. Širok spektar psihrofilnih bakterija i arhea su izolovani iz staništa na Arktiku i Antarktiku. Neki od njih pokazuju vrlo nisku optimalnu temperaturu rasta. Na temperaturi od -20°C džepovi tečne vode mogu da postoje u „smrznutim“ materijalima, a studije su pokazale da enzimi bakterija izolovanih iz hladnih sredina i dalje funkcionišu pod takvim uslovima. Čelijske membrane ostaju polutečne i funkcionalne i pri niskim temperaturama što je moguće zbog visokog nivoa nezasićenih kratkolančanih masnih kiselina. Psihrotolerantni mikroorganizmi su šire rasprostranjeni u prirodi nego što su psihrofili i mogu se izolovati iz vodenih staništa u umerenom klimatskom pojasu.

Većina organizama koja živi u slatkovodnim staništima se može svrstati u **mezofile** čiji se optimum nalazi u intervalu od 20 do 45°C dok im je rast moguć u temperaturnom intervalu od 15 do 45°C .

Organizmi čija optimalna temperatura rasta prelazi 45°C se svrstavaju u **termofile**, a oni čiji optimum prelazi 80°C u **hipertermofile** (slika 9). Najekstremnija staništa u prirodi sa visokim temperaturama, su topli izvori. U njima je zabeležena velika raznolikost termofila i hipertermofila. Mnogi kopneni topli izvori imaju temperature blizu ključanja, dok oni na dnu okeana, zvani hidrotermalni otvori mogu da imaju temperature od 350°C ili više. Vrelih izvora ima širom sveta, ali najveći broj njih je vezan za vulkanske aktivnosti. Temperature u većini toplih izvora su stabilne i variraju od jedan do dva stepena. Pored toga, različiti izvori imaju različit hemijski sastav i pH vrednost. U staništima toplijim od 65°C , mogu da uspevaju samo prokariotske ćelije, ali biodiverzitet bakterija i arhea u takvim sredinama je veliki. Među termofilima možemo pomenuti rod *Thermococcus* koji je izolovan iz hidrotermalnih izvora u dubokom jezeru, *Thiobacillus thiooxidans* poreklom iz sumpornih izvora, a iz dubokomorskih sredina su izolovane arhee rodova *Pyrodictium*, *Pyrococcus* i *Methanopyrus*. Vodene sredine sa visokom temperaturom vrlo često uključuju i druge abiotičke faktore poput kiselosti, koncentracije soli i hidrostatičkog pritiska koje život u ovakvim staništima čine još ekstremnijim.

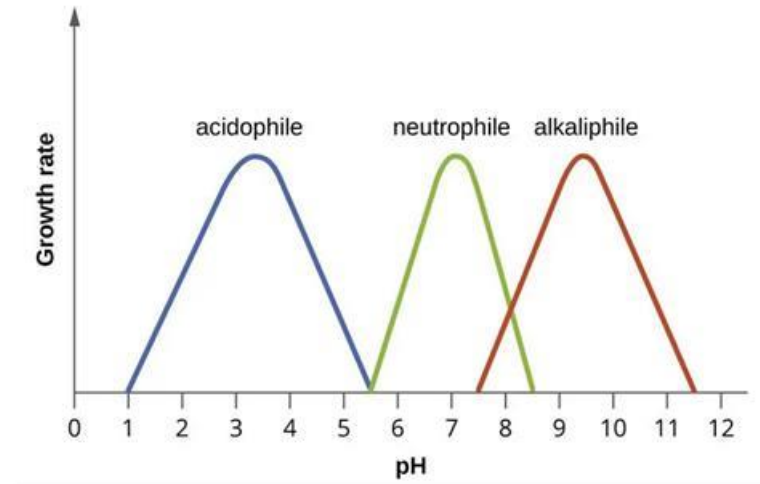
2.8.5. pH

Postoji veliki raspon u opsegu pH vrednosti površinskih voda. Mikroorganizmi mogu da se javljaju u sredinama čija se pH vrednost kreće blizu 0 pa sve do 12. Najkiselija jezera (pH između 0 i 2) su često povezana sa aktivnim vulkanima. Jezera u tresetištima, sa visokim koncentracijama organskih kiselina, imaju pH od 2 do 6. Većina jezera u umerenoj i tropskoj zoni imaju pH u rasponu od 7 do 9. Pustinjska jezera, zasićena karbonatima mogu imati pH 10 ili više. Ekstremni pH vode predstavlja ograničavajući faktor opstanaka za mnoge organizme (Doddson, 2004).

Analogno temperaturnom opsegu, svaki mikroorganizam ima pH opseg koji obično iznosi oko 2–3 pH jedinice, unutar kojeg je moguć rast jedne vrste. Takođe, svaki

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

organizam pokazuje dobro definisan pH optimum. Većina prirodnih sredina ima pH između 3 i 9, i kod većine organizama optimalni, tj. najbrži rast se dešava u tom intervalu. Na osnovu intervala u kojem postoji optimalni rast, mikroorganizmi se mogu podeliti na **neutrofile** (pH od 5,5 do 8), **acidofile** (pH <5,5) i **alkalofile** (pH ≥ 8) (Slika 10)



Slika 10 Odnos pH vrednosti sredine i maksimalne brzine rasta pojedinih grupa mikroorganizama (izvor <https://microbeonline.com/ph-requirements-microorganism/>)

Organizmi koji optimalno rastu pri pH vrednosti u opsegu koji se naziva cirkumneutralni (pH 5,5 do 7,9) nazivaju se neutrofili. Na primer, bakterija *Escherichia coli* je lep primer neutrofila. Bakterije i alge se uglavnom nalaze u neutralnim sredinama, dok gljive svoj optimalni rast postižu u blago kiselom okruženju. Promena pH vrednosti izaziva i promene u kvalitativnom sastavu fitoplanktona. U oligotrofnim jezerima pojavljuju se vrste koje su tipični neutrofili. Kod eutrofnih jezera pri masovnom razvoju algi pH vrednost može da poraste i do 11 kada dominiraju cijanobakterije koje mogu da tolerišu ovakve promene.

Organizmi koji rastu u kiselim sredinama u kojima je pH vrednost ispod 5,5 nazivaju se **acidofili**. Postoje različite grupe acidofila. Neke najbolje uspevaju u umereno kiselim pH, a drugi pri vrlo niskim pH vrednostima. Mnoge plesni i bakterije najbolje uspevaju pri 5 ili čak nižem pH. Daleko manji broj raste najbolje kada je pH <3, a oni sa pH optimumom ispod 1 su izuzetno retki. Eukariotski acidofili kao što su gljive rodova *Acontium*, *Cephalosporium* i *Trichospora*, alge roda *Klebsormidium*, i prokariotske bakterije i arhee naseljavaju kiselna staništa kao što su podvodni topli vulkanski izvori, sumporni izvori i kisele drenažne vode rudnika. U takvim ekstremno kiselim sredinama utvrđeno je da biofilm sastavljen od acidofilnih mikroorganizama igra značajnu ulogu u procesima kruženja organske materije i protoka energije.

Većina acidofila ne može da raste pri pH 7, a mnogi ne mogu da rastu pri pH vrednostima većim od dve jedinice iznad optimuma. Kritični faktor koji upravlja acidofilijom je stabilnost citoplazmatske membrane. Kada se pH podigne, dolazi do

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

destrukcije citoplazmatične membrane, a potom i do lize ćelije. To ukazuje da ovi organizmi nisu samo tolerantni na kiseline, već da su visoke koncentracije protona neophodne za stabilnost njihovih citoplazmatskih membrana.

Nekoliko ekstremofila ima vrlo visoke pH optimume za rast do pH 10, a neki od njih pri još većem pH mogu i dalje da rastu iako veoma sporo. Mikroorganizmi koji pokazuju pH optimum od 8 ili više nazivaju se **alkalofili**. Oni se obično nalaze u sredinama, kao što su alkalna jezera i visokokarbonatna zemljišta. Najbolje proučavani prokarioti su određene vrste roda *Bacillus* (*Bacillus alcalophilus*) arhea *Natronobacterium* i cijanobakterija *Spirulina platensis*.

Uprkos uslovima u njihovim staništima, ekstremni acidofili i alkalofili održavaju citoplazmu neutralnom (pH oko 7). Razni organski puferi su dostupni za rast acidofila i alkalofila i široko se koriste za održavanje intracelularne neutralne sredine koja omogućava nesmetani rast enzima. Tako je kod nekih bakterija utvrđeno da kada pH unutar ćelije padne na oko 5,5 do 6 u ćeliji se pokreće sinteza ćelijskih čaperona (šok proteini) koji imaju ulogu u održavanju neutralne citoplazme.

2.8.6. Dostupnost vode

Voda je veoma važan abiotički faktor jer ulazi u sastav ćelije i do 80% od ukupne mase i predstavlja sredinu u kojoj se odvijaju sve biohemijske reakcije koje održavaju ćeliju u životu. Moglo bi se pretpostaviti da za vodene organizme to ne bi trebalo da predstavlja izvor stresa s obzirom da oni žive okruženi vodom. Treba se podsetiti da pored ukupne količine vode mnogo važniji faktor za žive ćelije je njena **dostupnost**. Ona može biti smanjena usled interakcije sa molekulima rastvorene supstance. Na njenu dostupnost mogu uticati još i odnosi molekula vode sa čvrstim površinama i agregatno stanje vode (fazni efekat). Dostupnost vode u bilo kojoj sredini može biti izraženo u vidu veličine koja se zove **aktivnost vode (aw)**. Ova veličina predstavlja odnos između pritiska vodene pare iznad rastvora soli i pritiska vodene pare iznad čiste vode, a njena vrednost se kreće od nula do jedan. U prirodnim vodama dostupnost vode se kreće u intervalu od 1 kod slatkih voda do 0,75 kod slanih jezera. Preživljavanje u vodenim sredinama sa niskom aktivnošću vode zahteva održavanje visoke unutrašnje koncentracije soli. Kada organizam vrši transport vode iz sredine sa niskom aw u sredinu sa visokom aw on održava pozitivan bilans vode tako što povećava koncentraciju rastvorenih supstanci unutar ćelije. To je moguće ili upumpavanjem rastvorene supstance u ćeliju iz okolne sredine ili sintezom citoplazmatskih rastvora. U oba slučaja, rastvori moraju biti takvi da ne inhibiraju biohemijske procese u ćeliji i u tom slučaju oni se zovu **kompatibilni rastvorci**. Kod bakterija koje žive u slanim kopnenim vodama otkriveno je da kompatibilni rastvorci mogu biti glicin betain (*Aphanothece*, *Halorhodospira*) glicerol (*Dunaliella*), a kod najekstremniji halofila KCl (*Halobacterium*, *Salinibacter*, *Natrinema*).

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Koncentracija kompatibilnih rastvoraka u ćeliji je u funkciji nivoa rastvorene supstance u njenoj okolini. Kod bilo kojeg organizma maksimalni nivo tolerisanog kompatibilnog rastvorka supstance je genetički kodirana osobina. Kao rezultat procesa prilogađavanja, različiti organizmi su evoluirali da bi opstali u staništima različitog saliniteta. U pogledu njihovog odnosa prema osmotskom pritisku spoljašnje sredine, organizmi su označeni kao **nehalotolerantni**, **halotolerantni**, **halofilni** ili **ekstremno halofilni** što je odraz njihove genetičke sposobnosti da proizvode ili akumuliraju kompatibilne rastvorke (Slika 11).

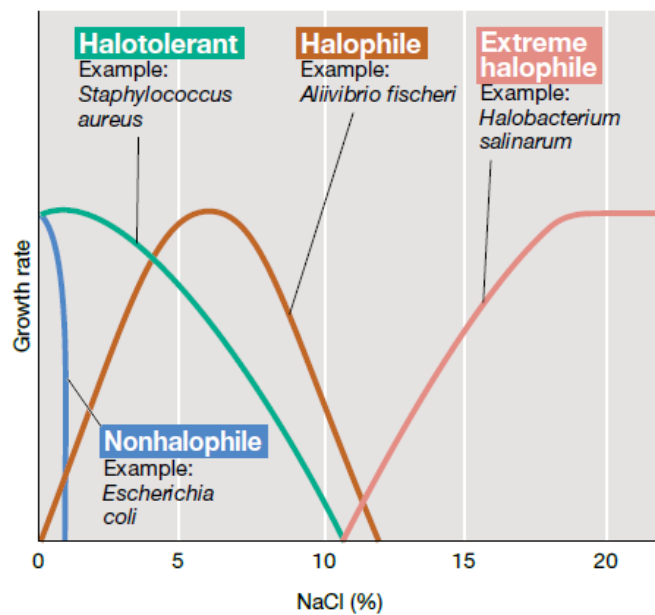


Figure 5.24 Effect of NaCl concentration on growth of microorganisms of different salt tolerances or requirements. The optimum NaCl concentration for marine microorganisms such as *Aliivibrio fischeri* is about 3%; for extreme halophiles, it is between 15 and 30%, depending on the organism.

Slika 11 Uticaj koncentracije NaCl na rast mikroorganizama koji pokazuju različitu toleranciju i zahteve za so (Madigan et al., 2019)

Većina halofila raste u rastvoru koncentracije 2 do 20% rastvora natrijum hlorida, dok ekstremni halofili žive i opstaju u veoma zaslanjenim staništima gde se koncentracija natrijum hlorida kreće preko 20% pa do potpune saturacije. Takvi organizmi žive u kontinentalnim slanim jezerima, soda jezerima i podzemnim jezerima. U ovim staništima se pojavljuju halofilni mikroorganizmi kao što su arhebakterije i alge. U pogledu načina ishrane u zaslanjenim sredinama žive aerobni i anaerobni heterotrofi, sulfat redukujuće bakterije, metanogeni i fototrofni organizmi koji žive u veoma zaslanjenim staništima. Njihove ćelije sadrže veliku količinu unutarćelijskog kalijuma koja dostiže koncentraciju od 4 do 7 mola. Visoka koncentracija kalijuma omogućuje snabdevanje vodom iz škrte spoljašnje sredine, a istovremeno obezbeđuje stabilizaciju intracelularnih enzima, ribozoma i transportnih proteina. Ova sredina bi razorila ćelije većine drugih nehalofilnih

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

mikroorganizama. Arhea *Halobacterium* je veoma prilagođena preživljavanju u ovakvim sredinama kojih je na zemlji relativno malo. Tu spadaju staništa kao što su slana jezera i močvare. One imaju visoku koncentraciju jona natrijuma i hlora što se može iskazati preko električne provodljivosti koja se kreće od 1000 do 270000 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Slana jezera sa velikom koncentracijom NaCl se nalaze u Australiji, Južnoj Americi i Antarktiku. S druge strane Istočna Afrika je poznata po jezerima u kojima dominira natrijum karbonat i to su takozvana soda jezera. U njima voda ima visok osmotski pritisak i vrlo često su veoma alkalna.

U zaslanjenim površinskim vodama mikroorganizmi su se tokom evolucije prilagođavali specifičnim uslovima koji su tokom istorije postepeno postajali sve suroviji zbog povećanja koncentracije soli. Proučavanjem mikrobioloških zajednica slanih jezera Australije utvrđeno je prisustvo karakterističnih zajednica dijatomejskih algi. Povećanje koncentracije soli uslovalo je smanjenje biološke raznovrsnosti dijatomeja. U oligosalinim jezerima dominirali su rodovi silikatnih algi *Eunotia* i *Achnanthes*, dok su u eusalinim jezerima dominirali rodovi *Navicula* i *Nitzschia*. Za samo četiri vrste je uvrđeno da se pojavljuju u svim uslovima zaslanjenosti što ukazuje na njihovu nezavisnost u pogledu koncentracije soli u spoljašnjoj vodenoj sredini.

U sredinama u kojima se voda nalazi u obliku snega i leda, one je uglavnom nedostupna (fazni efekat). Organizmi takvih staništa su prilagođeni na duge periode mirovanja sa kratkim fazama rasta u kojima oni tokom veoma kratkih leta završavaju svoj životni ciklus.

2.8.7. Hidrostatički pritisak

Hidrostatički pritisak predstavlja značajan abiotički faktor koji utiče na kreiranje mikrobioloških zajednica na većim dubinama. Većina slatkovodnih mikroorganizama živi u površinskim vodama gde se vrednosti hidrostatičkog pritiska kreću u intervalu od 1 do 10 atmosfera (bara). Hidrostatički pritisak se menja sa dubinom i povećava se za 1 atmosferu na svakih 10 m. U odnosu na ovaj faktor spoljašnje sredine možemo razlikovati **barotolerantne** i **barofilne** mikroorganizme. Najveći deo njih se mogu pronaći u morskim sredinama na većim dubinama gde je temperatura oko 4°C. Obično se radi o dubinama preko 10000 m. Takvi mikroorganizmi se svrstavaju u kategoriju **psihrofilnih barofila**. Barofilni mikroorganizmi zahtevaju povećan hidrostatički pritisak za optimalan rast. Do sada su barofili konstatovani kod nekoliko vrsta bakterija i arhea. Obzirom da su duboka slatkovodna jezera (Bajkalsko jezero) veoma retka, ovaj fenomen nije detaljno proučen kod slatkovodnih mikroorganizama.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

2.8.8. Organsko i neorgansko zagađenje

Zagađenje površinskih voda neorganskim i organskim materijama stvara ekstremne uslove u životnoj sredini. Kao primere možemo navesti industrijska zagađenja teškim metalima i upliv velike količine organskih materija.

Mikrobiološki odgovor na ovakve ekstremne uslove je proučavan duži vremenski period u sedimentima rudnika u odnosu na dve glavne grupe mikroorganizama: alge i protozoe. U oba slučaja odgovor na stres je uključio promene u taksonomskom sastavu mikrobioloških zajednica i pojavom vrsta sa sitnijim ćelijama. Kod silikatnih algi su vrste čije su jedinke bile krupnije zamenjene vrstama sa sitnijim ćelijama. Zagađenje je izazvalo smenu populacija protozoa. Krupnije amebe koje su nastanjivale stanište pre zagađenja zamenjene su amebama koje su manjih dimenzija.

U slučaju kisele drenaže rudnika zakiseljavanje je uglavnom uslovljeno sumpornom kiselinom koja je nastala mikrobiološkom oksidacijom sumpora od strane sumpor oksidujućih bakterija.

Među mikroorganizmima posebno mesto zauzimaju arhee. One predstavljaju prokariotske organizme koji su karakteristični i za vodena ekstremna staništa. Među ovom grupom organizama možemo pronaći brojne ekstremofile koji su se tokom evolucije prilagodili ekološkim uslovima ekstremnih staništa. Među njima su posebno interesantne sledeće grupe arhea: metanogene, sulfat redukujuće, ekstremni halofili, ekstremni termofili koji metabolišu sumpor.

Mada su arhee poseban takson postoji veliki diverzitet unutar zajednice. Oni svojim adaptacijama pokazuju mogućnost naseljavanja ekstremnih staništa.

2.9. Potencijalno ekstremna mikrosredina: granična površina vazduh-voda

Površinski film postoji na granici između vazduha i vode kod svih akvatičnih sistema (Slika 12). Ova granica predstavlja primer mikrostaništa koje je podložno ekstremnim hemijskim i fizičkim uslovima uključujući lokalno povećanje koncentracije organskih i neorganskih toksina, česte nagle promene temperature i izloženost jakom sunčevom zračenju. Sama površina vazduh-voda je značajna i u globalnom smislu jer obuhvata preko 70% površine planete zemlje i u lokalnom smislu jer utiče na razmenu energije i materije između atmosfere i vodnog tela. U stajaćim i tekućim vodama rastvorena i čestična organska materija se nagomilavaju u površinskom sloju sa obe strane stvarajući središnji površinski mikrosloj.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

(Figure 2.21).

and the reproductive stages of fish and shellfish

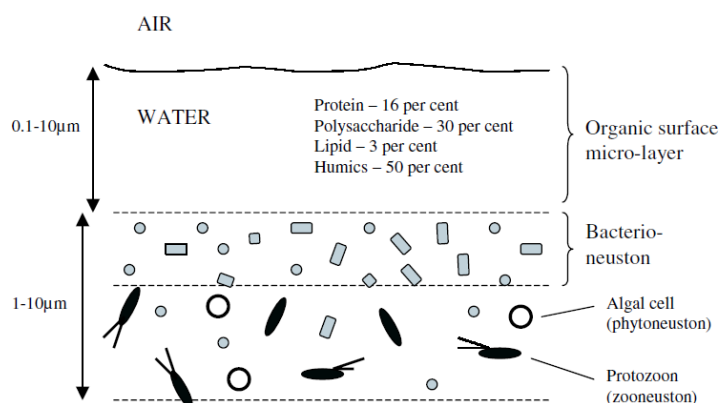


Figure 2.21 Microbial populations associated with the air-water surface biofilm. The bacterioneuston layer varies from single-cell (monolayer) to several-cell (multilayer) thickness. Individual bacterial cells may be free-floating (planktonic) or attached to macromolecules at the edge of the surface microlayer

Slika 12 Mikrobiološka zajednica na graničnoj površini vazduh-voda

Površinski sloj ima jedinstvene osobine koje omogućavaju nastanak posebne zajednice organizama koja se naziva neuston. Samu površinu vodene kolone čini organski površinski mikrosloj (1-10µm) ispod koga se nalazi sloj bakterioneustona, fitoneustona (alge) i zooneustona (protozoa). Ukupna debljina ovog sloja se kreće od 1 do 10µm. Svi ovi mikroorganizmi čine površinski biofilm.

2.9.1. Hemijski sastav površinskog mikrosloja

Većina organskih jedinjenja smanjuje površinski napon vode oslobađajući slobodnu energiju na površini tečnosti. Zbog toga se ovi molekuli apsorbuju na graničnoj površini voda-vazduh i ostaju unutar površinskog mikrosloja dostižući više koncentracije. Ovaj sloj ima debljinu oko 0,1 do 10 µm, i ima drugačiji hemijski sastav u odnosu na ostatak vodene kolone.

Površinski mikrosloj sadrži različita organska i neorganska jedinjenja. Organski materijal se pojavljuje u vidu čestica ili rastvorenog organskog materijala i to u vidu masnih kiselina, lipida i ugljovodonika. Ugljovodonici sadrže poliaromatične i hlorovane ugljovodonike uključujući polihlorovane bifenile i pesticide. Akumulacijom ovih jedinjenja u površinskom sloju povećava se njihova koncentracija što može uticati na rast mikroorganizama i štetno uticati na ostale biote u vodnom telu poput riba, školjki i drugih invertebrata koji su svojom biologijom povezani sa površinskim slojem.

Korišćenjem različitih savremenih hemijskih analitičkih tehnika u površinskom mikrosloju su identifikovata organska jedinjenja poput proteina, polisaharida, fenolnih i huminskih materija. Ovo su materije alohtonog porekla koje mogu da apsorbuju UV zrake i tako dolazi do njihove fotooksidacije. Na taj način mogu nastati derivati koji mogu inhibirati mikrobiološku aktivnost.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

Rastvoreni organski i neorganski molekuli se takođe mogu akumulirati na površini mikrosloja uključujući tu fosfate, amonijak, nitratre i nitrite. Njihovo prisustvo na površini vode je posledica ekskrecije i mikrobiološke razgradnje od strane organizama koji se nalaze u mikrofilmu. Neorganska jedinjenja se vrlo često kompleksiraju sa organskim molekulima koji se nalaze u vodenom stubu ili na samoj površini. Njihova koncentracija na površini vodenog stuba je veća kod eutrofnih nego kod oligotrofnih jezera. Akumulacija teških metala poput hroma, olova, žive, cinka prisutnih u vidu čestičnog i rastvorenog materijala je zabeleženo u površinskim filmovima. Iako je njihovo zadržavanje u površinskom sloju znatno kraće, oni mogu biti potencijalno toksični kako za mikroorganizme tako i za ostale članove vodene biocenoze.

2.9.2. Fizički procesi i transformacija površinskog biofilma

Površinski film je mesto gde se odvijaju različiti procesi razmene i transformacije materije. Dospevanje materije u biofilm putem suve depozicije ili padavinama je u ravnoteži sa stvaranjem aerosola koji nastaje delovanjem vazdušnih strujanja i lokalnim zagrevanjem. Kapi aerosola prečnika od 2–10 μm predstavljaju sloj koji može zahvatiti bakterije ili toksine algi i odneti ih sa površine vode. Unos materijala iz vodenog stuba u površinski film balansira se gubitkom čestica i rastvorljivih materija, uglavnom sedimentacijom i rastvaranjem (Slika 13).

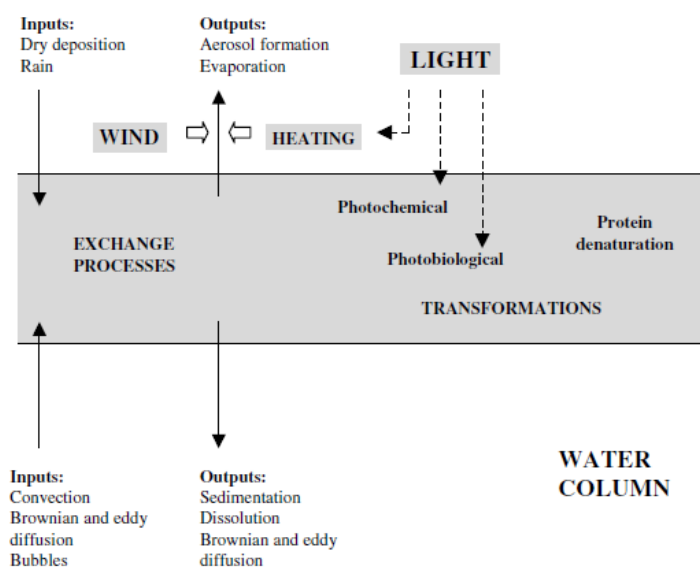


Figure 2.22 Physico-chemical exchange and transformation processes in the surface biofilm. Light damage occurs to isolated molecules (photochemical) and whole organisms (photobiological). The surface biofilm is indicated as the central shaded area

Slika 13 Fizičko-hemijski procesi razmene i transformacije na graničnom sloju vazduh voda

Površinski biofilm služi kao statička barijera za razmenu gasova i može uticati na temperaturu površinskog sloja usporavajući evaporaciju ili na pokretljivost vode na samoj

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

graničnoj površini. Unutar biofilma se takođe dešavaju različiti procesi biološke transformacije zajedno sa fotodegradacijom i denaturacijom proteina.

Oba dela sunčevog spektra vidljivi i UV imaju direktne uticaje na hemijske i biološke komponente (mikroorganizme) i indirektno stvarajući kratkoživeće kiseonične radikale koji vode degradaciji organske materije. Aromatična i jedinjenja koje sadrže sumpor su posebno osetljiva na fotodegradaciju apsorpcijom UV zraka. Dolazi do oštećenja aminokiselina, proteina i nukleinskih kiselina pri čemu efekti oštećenja izazvanih svetlom mogu imati potencijalno ozbiljne efekte na površinske mikroorganizme.

Graham i Phillips (1979) su na model sistemu pokazali nepovratnu adsorpciju i denaturaciju proteina na graničnoj vodenoj površini. Proces adsorpcije podrazumeva sledeći niz događaja: difuzija proteina na površinu vode što dovodi sudaranja sa dodirnom površinom vazduh-voda; reverzibilna faza adsorpcije, u kojoj se neki proteinski molekuli gube (desorbuju), dok drugi ostaju ili su kandidati za adsorpciju; trajna adsorpcija, koju prate nepovratne promene u konfiguraciji proteina - formira se primarni proteinski monomolekularni sloj debljine 5–6 nm; nastavak adsorpcije, što dovodi do stvaranja proteinskog filma maksimalne debljine > 10 nm.

2.9.3. Mikrobiološka zajednica na graničnoj površini vazduh voda

Bakterije, alge i protozoe učestvuju u stvaranju zajednice na površini filma. Bakterijske zajednice na površini vode (**bakterioneuston**) postoje kao pojedinačne ćelije; mikrokolonije sa jednim ili više bakterijskih slojeva koji grade različite biofilme. Neke bakterije su slobodno pokretne planktonske, dok su ostale pričvršćene za molekularni matriks unutar površinskog mikrosloja. Utvrđeno je da su bakterije za površinski sloj pričvršćene istim adhezionim silama kao i za čvrste površine. Rast i metabolizam bakterija unutar površinskog biofilma je pod uticajem različitih faktora sredine kao što su koncentracija nutrijenata, temperaturni uslovi, akumulacija organskih toksina, teških metala i intenziteta sunčevog zračenja. Uprkos promenljivosti i brojnim stresnim faktorima sredine studije na osnovu usvajanja nutrijenata i nivoa respiracije pokazuju da je najveći deo bakterijske populacije metabolički aktivan i fiziološki prilagođen lokalnim uslovima sredine.

Posle ove inicijalne kolonizacije rast i preživljavanje mikrobiološke zajednice zavisi od sposobnosti korišćenja organskog supstrata i tolerisanja negativnih faktora životne sredine.

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

2.9.3.1. *Fitoneuston*

Bakterije se generalno smatraju primarnim kolonizatorima vodenog površinskog filma. Alge i protozoe se pojavljuju kao sekundarni članovi zajednice i razvijaju biofilm ispod sloja pričvršćenih bakterija. Prisustvo algi u površinskim biofilmovima je pokazano direktnim posmatranjem i određivanjem koncentracije hlorofila a. Površinske populacije ovih organizama su prilično promenljive, a najveća gustina fitoneustona ustanovljena je u obliku diskretnih ćelijskih nakupina sa visokom koncentracijom organskog materijala. Ove lokalizovane grupacije površinskih algi povećavaju debljinu i složenost biofilma. Alge mogu ući u površinske zajednice na različite načine. Može se izvršiti razmena sa populacijom fitoplanktona u vodenoj koloni kao deo dnevnih oscilacija. Uprkos potencijalnim ograničenjima sredine analiza primarne produktivnosti površinskog sloja vode ukazuje na više vrednosti od onih u vodenoj koloni.

2.9.3.2. *Zooneuston*

Predstavnici protozoa poput ameba i cilijata zabeleženi su na mikrostaništu na graničnoj površini vazduh voda sa jasnom pozitivnom vezom između gustine njihove populacije i biomase bakterioneustona. Ovi sekundarni kolonizatori formiraju značajnu vezu između prokariota i viših trofičkih nivoa i vezu sa višim organizmima koji su povezani sa vodenom površinom uključujući kopepode i različite larve.

2.10. Mikrobiološke zajednice snega i leda

Sneg i led predstavljaju staništa za opstanak ekstremofilnih mikroorganizama. Staništa su uglavnom slatkovodna, ali voda se nalazi u čvrstom stanju i zbog toga je teško dostupna. Tu spadaju sledeća staništa: snežna polja, glečeri, zaleđena jezera i zaleđeno more.

Većina od navedenih zamrznutih slatkovodnih staništa su ekstremna u pogledu temperature, kiselosti, nivoa sunčevog zračenja, minimalne količine nutrijenata i isušivanja. Organizmi koji naseljavaju ova staništa su uključeni u primarnu produkciju, kruženje elemenata, respiraciju, dekompoziciju, akumulaciju teških metala i u lance ishrane.

Većina organizama koji nastanjuju snežna staništa su psihrofili. Kod staništa gde dolazi do topljenja snega populacije algi su veoma brojne. One se mogu uočiti pojavom crvenog i zelenog snega. Visoka brojnost algi povlači za sobom veliku brojnost bakterija.

Snežni ekosistemi su sačinjeni iz sloja snega iznad površine zemlje, gde su mikroorganizmi i na zemlji i u samom snegu. Potrebno je naglasiti njihov značaj kao slatkovodnih ekosistema, jer su ledeni glečeri i kape najdominantniji u celokupnom udelu

2. Uticaj fizičko-hemijskih uslova sredine na zajednice mikroorganizama u slatkovodnim ekosistemima

svetske vode. Alge i neki drugi mikroorganizmi koji se javljaju na površini snega su veoma često izloženi uticaju pojačane insolacije. Zbog svoje loše toplotne provodljivosti sneg predstavlja dobar toplotni izolator za organizme koji ga naseljavaju. Ovi ekosistemi formiraju povoljne uslove koji će omogućiti cvetanje zelenih algi (zeleni, crveni, narandžasti snega). Prilikom faze topljenja dominiraju flagelatne alge koje mogu da migriraju na druga staništa što je bitno za njihov ciklus razvika.

Mikroorganizmi koji se nalaze u staništima sa snegom ulaze u interakcije poput lanaca ishrane, odnose između populacije mikroorganizama ili direktnim odnosima koji postoje između individualnih organizama. Trofički odnosi u vidu lanaca ishrane su aktuelni samo u delu godine kada se sneg topi. Odnosi između populacija uključuju sledeće: alge i bakterije; alge i filamentozne gljive pokazuju pozitivnu korelaciju u pogledu brojnosti populacija. Brojne gljive u snežnim sredinama egzistiraju u formi kvasaca čija je brojnost u pozitivnoj korelaciji sa brojnošću algi. Heterotrofne bakterije, filamentozne gljive i kvasci rastu na rastvorenom organskom ugljeniku koji kao sekret stvaraju ćelije algi. Ovo ukazuje da mikrobiološka petlja funkcioniše i u ovim ekosistemima kao i kod jezera i reka.

Literatura

1. Sigeer DC. 2005. Freshwater Microbiology, Biodiversity and dynamics interactions of microorganisms in the aquatic environment. United Kingdom: John Wiley and Sons, LTD.
2. Michael T. Madigan, Kelly S. Bender, Daniel H. Buckley, W. Matthew Sattley, David A (2019): Brock Biology Of Microorganisms. Pearson Education Limited 2019. ISBN 10: 1-292-23510-1.
3. doi:10.4467/16890027AP.13.0020.1117
<https://www.researchgate.net/publication/278055537> Protozoa and Oxygen

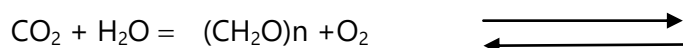
3. KRUŽENJE MATERIJU U VODENOJ SREDINI

Energija protiče kroz ekosistem, ulazeći u njega u vidu sunčeve svetlosti apsorbacijom od strane fotoautotrofa (ili neorganske materije u slučaju hemoautotrofa), konvertuje se, konzervira i napušta ga kao toplota tokom transformacije energije koja se dešava između trofičkih nivoa. Sa druge strane materija koja ulazi u sastav živih organizama se konzervira i kruži unutar ekosistema. Osnovni konstituenti organske materije su biogeni (organogeni) elementi od kojih su najvažniji ugljenik, azot, fosfor, vodonik, kiseonik i sumpor. Ovi elementi se transformišu iz abiotičkih u biotičke, iz neorganskih u organske oblike i mogu opstajati dug vremenski period u vodi, zemljištu i atmosferi. U vodenoj sredini procesi kruženja nutrijenata odnose se na transfer koji se javlja između različitih hemijskih oblika i između različitih ekoloških kompartmenata (različite grupe organizama, vodena sredina, detritus). Zbog toga što geološki i hemijski procesi igraju važnu ulogu u kruženju organogenih elemenata između živih organizama i njihovog abiotičkog okruženja, takvi procesi se nazivaju biogeohemijskim ciklusima kruženja. Iako svi živi organizmi uzimaju učešće u ovim kruženjima, mikroorganizmima koji se odlikuju širokim metaboličkim diverzitetom, pripada ključna uloga. Time oni učestvuju u procesima regeneracije biološki dostupnih nutrijenata koji predstavljaju deo generalnog procesa kruženja elemenata u prirodi.

3.1. Kruženje ugljenika

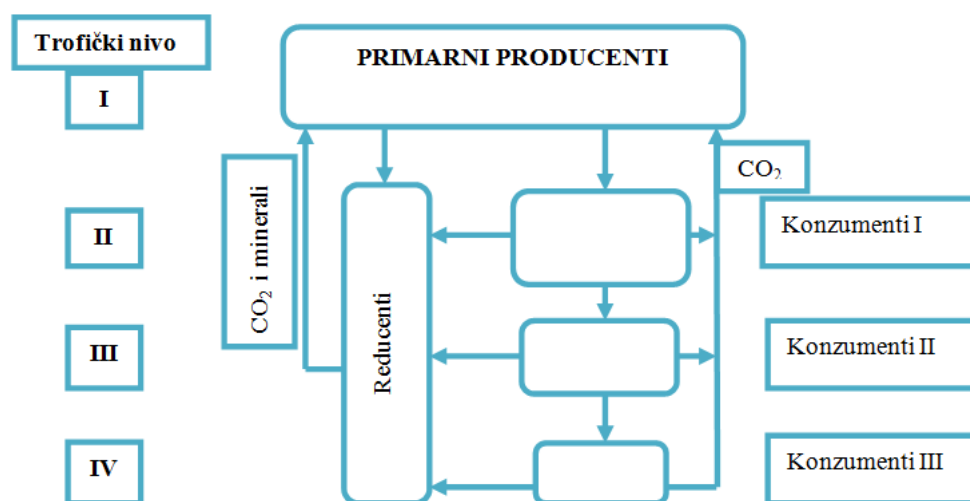
Ugljenik je drugi element po zastupljenosti u organizmima u kojima čini osnovu stukture biomolekula (organske materije) a prisutan je i u određenim neorganskim jedinjenjima kao što je ugljendioksid. Jedinjenja ugljenika sadrže energiju i mnoga od njih, poreklom od uginulih biljaka i algi, su fosilizovana milionima godina u obliku fosilnih goriva. Sa industrijskom revolucijom eksploatacija takvog goriva je drastično porasla rezultirajući povećanu emisiju ugljendioksida u atmosferu i negativan uticaj na globalne klimatske promene.

Osnovnu rezervu ovog elementa u prirodi čine ugljendioksid u atmosferi i rastvoren u vodi, kao i organska jedinjenja ćelijske biomase. Kruženje ugljenika čine međusobno dva povezana podciklusa: jedan se odvija brzom razmenom između živih organizama (biološko kruženje) i drugi koji se odvija dugotrajnim kruženjem ugljenika kroz geološke procese (biogeohemijsko kruženje). Proces kruženja započinje ugljendioksidom koji se u procesu fotosinteze redukuje do organskih komponenata $-(CH_2O)_n$:



3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

Proces se naziva primarnom produkcijom i u njemu glavna uloga pripada primarnim producentima (fotosintetske bakterije, cijanobakterije, alge i biljke). Takva organska materija je visokoenergetska, jer se sunčeva energija od strane ovih organizama koristi za formiranje kovalentnih veza između ugljenikovih atoma koje skladište energiju koja će se kasnije u procesu respiracije koristiti. Tokom procesa respiracije deo organske materije primarni producenti transformišu do CO_2 , dok se ostatak prenosi na heterotrofne konzumente koji ga takođe procesom respiracije prevode do CO_2 učestvujući tako u procesu kruženja ovog elementa. Prenos energije koja je skladištena u organskim jedinjenjima se prenosi od primarnih producenata ka primarnim konzumentima, a od njih dalje ka sekundarnim i tercijernim trofičkim nivoima u lancima ishrane (Slika 1).



Slika 1 Osnovne komponente lanca ishrane (Čomić, 1999)

Aktivnošću svih tih organizama i njihovim ugibanjem, nagomilava se organska materija u ekosistemu. Njihovu redukciju vrše mikroorganizmi (reducenti) zahvaljujući enzimama koje sintetišu. Osnovni reducenti koji vrše takvu degradaciju organske materije su heterotrofi. Degradaciju u aerobnim uslovima prevashodno vrše mikro i makroorganizmi, dok se u anaerobnim uslovima odvijaju procesi fermentacije u kojima glavna uloga pripada mikroorganizmima. Mikroorganizmi mogu da degradiraju i složene i teško razgradljive polimere ugljenika poput celuloze, lignina i dr.

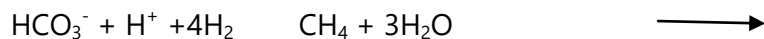
Transformacija ugljenikovih jedinjenja se najčešće dešava u aerobnim uslovima, jer se procesom respiracije dobija najveća količina energije. Respiracijom nastaju CO_2 i voda, dok procesi fermentacije rezultiraju nastankom alkohola i organskih kiselina. U anaerobnim uslovima razgradnja organske materije se odvija uz nastanak gasovitih produkata poput metana i CO_2 . Taj proces se označava metanogenezom, a mikroorganizmi koji ga vrše nazivaju se metanprodukujuće bakterije ili metanogeni (rodovi *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Metanobacterium* koji pripadaju domenu Archea). S obzirom da kao jedini izvog ugljenika koriste CO_2 odlikuje ih hemolitotrofni tip

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

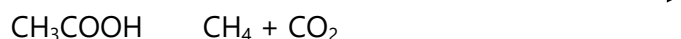
metabolizma. Metan se najčešće formira procesom redukcije CO₂ vodonikom koji je produkt fermentacije:



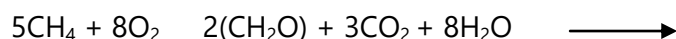
Ukoliko je ugljenik dostupan u vidu karbonata što je često slučaj u vodenim sredinama, onda reakcija podrazumeva:



Postoje i neki predstavnici metanogenih bakterija koji mogu da metabolišu organske kiseline ili alkohole do krajnjih produkata metana i CO₂ što se dešava na sledeći način:



Metan kao bioproduct nastao u navedenim procesima može biti korišćen od strane metanoksidujućih bakterija (rodovi Methanomonas, Methylococcus, Methylomonas i dr.):



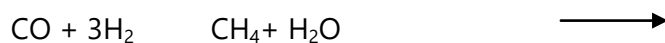
Metanogene i metiloksidujuće bakterije su osim u zemljištu široko rasprostranjene u vodenim sredinama, pri čemu su metanogene uglavnom aktivne u sedimentu, a metanoksidujuće su prisutne u metalimnionu i hipolimnionu u kojima ima dovoljno rastvorenog kiseonika, neophodnog za oksidativne procese.

Pored gore navedenih jedinjenja ugljenika, ugljenmonoksid se takođe javlja u životnoj sredini gde dospeva procesima respiracije, fermentacije, fotooksidacije organske materije (aktivnošću cijanobakterija i algi) ili antropogenim delovanjem. Za većinu aerobnih organizama ovo jedinjenje je izuzetno toksično, međutim pojedine vrste mikroorganizama mogu da vrše njegovu transformaciju do netoksičnih produkata. Tako neke vrste roda Pseudomonas u aerobnim uslovima mogu da koriste CO kao izvor ugljenika i energije transformišući ga do vodonika i ugljendioksida:



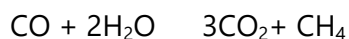
U sedimentima bogatim organskim materijama se ovakva transformacija dešava uz učešće vrsta rodova Bacillus, Hydrogenomonas, Carboxydomonas i dr.

Anaerobna transformacija ugljenmonoksida do metana uz učešće vodonika aktivnošću nekih bakterija vrše se na sledeći način:



Ukoliko vodonik nije dostupan transformacija se odvija do metana i ugljendioksida:

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI



Prenos ugljenika kroz abiotičku komponentu ekosistema je veoma kompleksan proces i dešava se mnogo sporije nego prenos između organizama. Ugljenik je deponovan za dugi niz godina u vidu rezervoara ugljenika u atmosferi, vodenim telima, sedimentu, stenama i sl. Nivo ugljendioksida u atmosferi je pod stalnim uticajem rezervoara ugljenika koji se nalazi u vodenim sredinama. Razmena ugljenika između atmosfere i vodenih ekosistema zavisi od toga koliko se ovog elementa nalazi u svakom od njih. Ugljendioksid iz atmosfere se rastvara u vodi i reaguje sa molekulima vode formirajući jonska jedinjenja. Neki do njih se kombinuju sa kalcijumovim jonima formirajući kalcijum karbonat, koji je najznačajnija komponenta ljušturica vodenih organizama. Nakon ugibanja tih organizama, od ljušturica se formira sediment, dok kalcijum karbonat formira krečnjak koji obuhvata najveće rezerve ugljenika na Zemlji.

3.2. Kruženje azota

Azot je organogeni element koji ulazi u sastav najznačajnijih makromolekula u organizmima, proteina i nukleinskih kiselina i drugim biomolekulima u kojima je prisutan u oksidovanom stanju 3 (kao što je to npr. u NH_3). Ovaj element se u prirodi nalazi u vidu gasovitog elementarnog azota u atmosferi i rastvoren u vodi, kao i u organskim i neorganskim jedinjenjima, koja podležu procesima transformacije u kojima ključnu ulogu imaju mikroorganizmi. Organski azot je od izuzetne važnosti, jer odvijanje mnogih procesa u životnoj sredini zavisi od dostupnih izvora ovog elementa. U vodenim sredinama se azot javlja u različitim oblicima od kojih su najvažniji rastvorljivi oblici. Tokom autotrofnog rasta fotoautrofa u vodenim ekosistemima, korišćenje azota se javlja u vidu a) asimilacije rastvorljivih nitrata, nitrita u amonijaka i b) fiksacije rastvorenog elementarnog azota (N_2).

Sam proces kruženja azota obuhvata nekoliko faza: 1. azotofiksacija, 2. amonifikacija, 3. nitrifikacija, 4. denitrifikacija (Slika 2).

3.2.1. Azotofiksacija

Korišćenje azota od strane živih organizama je veoma otežano. Biljke i fitoplankton ne mogu da koriste elementarni azot (N_2) iako ga ima oko 78% u atmosferi i u vodenoj sredini u rastvorenom obliku. Azot u živi svet ulazi zahvaljujući aktivnosti azotofiksirajućih bakterija, koji azot inkorporiraju u svoju organsku materiju specijalizovanim biohemijskim procesom azotofiksacije. U tom procesu se elementarni azot konvertuje u amonijak (NH_4) koji spontano prelazi u formu amonijum jona (NH_4^+). Proces zahteva prisustvo i aktivnost enzima nitrogenaze koji se sastoji od dva koproteina (jedan sadrži molibden i

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

gvožđe, a drugi samo gvožđe). Proces je anaeroban i energetski zavisn (potreban ATP), a aktivnost enzima je ugrožena u prisustvu kiseonika. Azotofiksacija se smatra jednim od skupljih metaboličkih procesa s obzirom da je za redukciju jednog molekula azota potreban utrošak tri molekula ATP-a.

Azotofiksaciju mogu da vrše simbiotski i asimbiotski azotofiksatori. Simbiotski azotofiksatori (rodovi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*) obrazuju mutualističke zajednice sa višim biljkama u okviru kojih koriste organsku materiju nastalu biljnom fotosintezom, a zauzvrat biljku snabdevaju jedinjenjima azota. Asimbiotski ili slobodno živeći azotofiksatori obuhvataju aerobne i anerobne bakterije. Najznačajniji predstavnici aerobnih azotofiksatora su vrste rodova *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio* i veliki broj heterocistnih cijanobakterija (*Anabaena*, *Nostoc*, *Tolypothrix*, *Rivularia*, *Aphanizonmeon*) koje na nivou svojih specijalizovanih ćelija – heterocista, vrše proces fiksacije azota. Anaerobni azotofiksatori obuhvataju obligatno anaerobne vrste rodova *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Rhodospirillum*, *Chlorobium* i fakultativne anaerobe rodova *Klebsiella*, *Azospirillum* i dr.

Doprinos azotofiksacije sadržaju azota u vodenim ekosistemima varira u zavisnosti od nutritivnog statusa vodnog tela, naročito ukupnog nivoa dostupnih nutrijenata i odnosa azota i fosfora. Najveći uticaj azotofiksacija ima u eutrofnim vodama (50-80% godišnjeg prinosa) ili mezotrofnim vodama. Međutim, značaj ovog procesa u eutrofnim vodama u kojima je istovremeno visok nivo azota i fosfora, kao i u oligotrofnim vodama, je značajno manji.

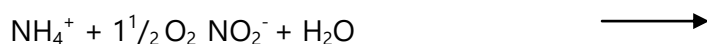
3.2.2. Amonifikacija

Azot ulazi u sastav biljnih i životinjskih makromolekula, poput proteina, koji podležu razgradnji aktivnošću mikroorganizama poznatih kao amonifikatori u procesu koji se naziva amonifikacija. Proces teče od degradacije proteina do peptida učešćem proteolitičkih bakterija (*Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* i dr.) i njihovih ekstracelularnih enzima proteinaza. Razgradnja peptida do aminokiselina se odvija aktivnošću enzima peptidaza i proces je takođe ekstracelularan. Aminokiseline mogu endogeno biti transformisane oksidativnom deaminacijom uz delovanje enzima dehidrogenaza i formiranje amonijaka i ketokiselina, ili neoksidativnom deaminacijom uz stvaranje amonijaka i masnih kiselina. U kiselim i neutralnim sredinama amonijak se javlja u formi amonijum jona koji može biti asimilovan od strane drugih organizama poput algi i biljaka. U alkalnim aerobnim sredinama amonijak oksidacijom prelazi u nitrate.

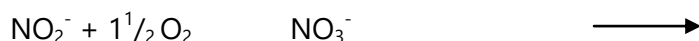
3.2.3. Nitrifikacija

Amonijak nastao u procesu amonifikacije podleže daljim transformacijama od kojih je najznačajniji proces oksidacije do nitrata što se naziva nitrifikacijom. Nitrifikacija je egzergoni proces koji se odvija uz oslobađanje energije u dve faze aktivnošću specijalizovanih mikroorganizma, nitrifikatora.

Prva faza podrazumeva oksidaciju amonijaka (ili amonijum jedinjenja) do nitrita što se označava procesom nitritacije:



Nastali nitriti se dalje oksiduju u procesu poznatom kao nitratacija:



U ovim procesima nitrifikacione hemolitotrofne bakterije dobijaju energiju koja im je potrebna za redukciju ugljendioksida i sintezu organske materije. U prvoj fazi, nitritaciji, ključne su vrste rodova *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, dok u drugoj fazi, nitrataciji, dominantna uloga pripada rodovima *Nitrobacter*, *Nitrospina* i *Nitrococcus*.

3.2.4. Denitrifikacija

Proces denitrifikacije podrazumeva dalju transformaciju nitrata koji se nalaze u prirodnim ekosistemima. Transformacija se može odvijati u aerobnim i anaerobnim uslovima aktivnošću posebne fiziološke grupe mikroorganizama. U aerobnim uslovima se u procesu asimilacione redukcije, nitrati mogu inkorporirati u organska azotna jedinjenja aktivnošću bakterija, algi i gljiva. Enzimi neophodni za ovaj proces su nitrit i nitrat reduktaza.

U anaerobnim uslovima se nitrati od strane mikroorganizama mogu koristiti kao krajnji akceptori elektrona u procesu nitratnog disanja (disimilacione redukcije nitrata) tokom kojeg se nitrat redukuje uz istovremenu oksidaciju organske materije. Postoje dva tipa nitratnog disanja:

- Redukcija nitrata do nitrita uz aktivnost fakultativno anaerobnih bakterija (*Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Spirillum*, *Vibrio* i dr.). Pojedine vrste mogu dalje da redukuju nitrite do amonijaka.
- Redukcija nitrata do molekuskog azota uz učešće denitrifikatora (*Pseudomonas*, *Alcaligenes* i dr.), pri čemu se nitrati preko nitrita i azotmonoksida transformišu u molekulski azot.

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI



Slika 2 Proces kruženja azota u vodenim sredinama (Segee, 2005)

Čovek takođe svojim aktivnostima utiče na ciklus kruženja azota. Takav antropogeni uticaj se reflektuje prvenstveno kroz sagorevanje fosilnih goriva (što rezultira oslobađanjem različitih azotnih oksida) i korišćenje veštačkih azotnih đubriva u poljoprivredi koja dospevaju u vodene ekosisteme spiranjem sa obradivih površina. Atmosferski oblici azota (izuzev N₂) utiču na ekosisteme putem kiselih kiša (kao azotna kiselina) i efekta staklene bašte (kao azot dioksid), uzrokuju promene na globalnom nivou, uključujući i uticaj na klimatske promene. Najznačajniji efekat spiranja sa obradivih površina je obogaćivanje vodenih ekosistema azotom, što može dovesti do eutrofizacije i cvetanja algi, a samim tim i neželjenih posledica po vodene organizme i ekosistem u celini.

3.3. Kruženje fosfora

Fosfor je esencijalni organogeni element koji je neohodan za odvijanje mnogih životnih procesa. Glavna je komponenta nukleinskih kiselina, fosfolipida, polifosfata, koenzima i drugih važnih molekula, čineći oko 0,3-0,5% suve mase ćelije. Često je limitirajući nutrijent neopohodan za rast, naročito u slatkovodnim sredinama. Fosfor se u prirodnoj sredini može javiti u organskom i neorganskom obliku. Organska komponenta koja se može mikrobiološki transformisati, čini oko polovinu ukupnih rezervi fosfora u prirodi. Neorganski fosfor se većim delom nalazi u vidu minerala ili teško rastvorljivih jedinjenja

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

zbog čega je njegova transformacija i uključivanje u ciklus kruženja veoma sporo. Manji deo neorganskih oblika čine rastvorljivi ortofosfati koji su dostupni primarnim producentima. Transformacije fosfora i ciklus kruženja uključuje dva ključna procesa: fosfomineralizaciju i fosfomobilizaciju.

Fosfomineralizacija podrazumeva procese prevođenja organskog oblika fosfora u neorganski. Organski oblici fosfora su fitin, nukleinske kiseline i lipidi poreklom od živih organizama. Aktivnošću enzima fosfataza produkovanih od strane različitih vodenih mikroorganizama vrši se mineralizacija organskih jedinjenja fosfora do rastvorljivih neorganskih fosfata (ortofosfata) ili fosforne kiseline. U ovim procesima učešće uzimaju bakterije, aktinomicete i gljive.

Fosfomobilizacija je biohemijski proces kojim se nerastvorljivi oblici fosfora poput trikalcijumfosfata prevode do lako dostupnih ortofosfata. Postoje dva osnovna načina mobilizacije, direktna i indirektna. Direktna mobilizacija fosfata je mikrobiološki proces u kome mikroorganizmi direktno koriste fosfor iz trikalcijumfosfata što je karakteristika mnogih cijanobakterija (*Oscillatoria*, *Anabaena*), bakterija, aktinomiceta, algi (*Scenedesmus*, *Chlorella*) i gljiva. Osim toga pojedine bakterije mogu da koriste Ca^{2+} iz trikalcijumfosfata prevodeći ga u vodi rastvorljive sekundarne i tercijerne fosfate koji na taj način bivaju dostupni autotrofima.

Indirektna mobilizacija podrazumeva indirektno učešće mikroorganizama u procesu hidrolize fosfata pomoću kiselina ili katjonskim delovanjem. Mikroorganizmi produkuju kiseline tokom metabolizma i to često u procesima fermentacije ili nepotpune oksidacije ugljenih hidrata. Najznačajniji akteri u ovom tipu procesa su rodovi *Nitrosomonas* (producent azotne kiseline) i *Thiobacillus* (producent sumporne kiseline).

Fosfor ulazi u sastav i teško rastvorljivih soli gvožđa, magnezijuma i aluminijuma iz kojih se može izdvojiti procesom defosforifikacije. Taj anaerobni proces podrazumeva redukciju oksidovanih oblika (npr. nerastvorljivi ferifosfat) u redukovana jedinjenja (rastvorljivi ferofosfat).

U vodene ekosisteme fosfor dospeva u različitim oblicima. Jedan deo rastvorljivih formi fosfora se inkorporira u lance ishrane i ciklus kruženja, dok se jedan deo deponuje u sediment. Poseban značaj za vodene ekosisteme ima dodatni unos fosfora kao što je spiranje sa poljoprivrednih površina i iz otpadnih voda (antropogeni uticaj). Dodatne količine fosfora uzrokuju proliferaciju algi i dovode kao i u slučaju azota do pojave cvetanja. Alge se u tom slučaju razvijaju sve dok jedan od ključnih organogenih elemenata nestane, nakon čega dolazi do uginuća, taloženja talusa, što dovodi do intenzivne degradacije biomase od strane heterotrofa koji za takav proces troše velike količine kiseonika rastvorenog u vodi. Kao posledica može da se javi hipoksija ili anoksija, što dovodi do uginuća oksifilnih vodenih organizama. Ovaj proces je odgovoran za stvaranje tkz. mrtve zone u jezerima i ušćima velikih reka u kojima dolazi do masovnog

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

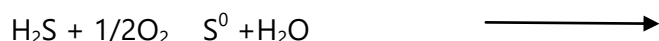
ugibanja riba. Mrtve zone u vodenim ekosistemima se javljaju periodično kao posledica eutrofizacije, i često u kombinaciji sa drugim faktorima kao što je izlivanje nafte, odlaganje toksičnog otpada i drugih antropogenih aktivnosti. Poslednjih decenija broj i veličina mrtvih zona se višestruko povećao u vodenim ekosistemima širom sveta.

3.4. Kruženje sumpora

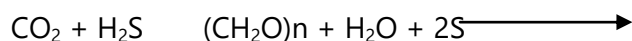
Sumpor je esencijalni organogeni element koji ulazi u sastav određenih aminokiselina, ferodoksina, koenzima A. U prirodi se javlja i u organskom i u neroganskom obliku. Najvažniji neorganski oblici su sulfati i sulfidi, čiju asimilaciju vrše primarni producenti. Ugibanjem organizama organska jedinjenja sumpora dospevaju u životnu sredinu gde podležu procesima degradacije od strane heterotrofne mikrobne populacije. Sumpor se može javiti i u gasovitom obliku (npr. H₂S i sumpordioksid) aktivnošću vulkana i geotermalnih izvora, dok elementarni sumpor ulazi u sastav vulkanskih stena.

Kruženje sumpora podrazumeva procese mineralizacije organskih jedinjenja sumpora, oksidativne transformacije i redukcione transformacije jedinjenja sumpora. Mineralizaciju organskih sumpornih jedinjenja (npr. aminokiseline sa sumporom) vrše heterotrofne bakterije poput vrsta rodova Bacillus, Proteus, Achromobacter i dr. Ovaj proces redukcije aminokiselina koji se odvija u anaerobnim uslovima uz učešće odgovarajućih enzima, rezultira nastankom sumporvodonika kao produkta. U aerobnim vodenim sredinama kao produkt mineralizacije obično nastaje dimetilsulfid.

Oksidacija sumpornih jedinjenja do elementarnog sumpora se odvija uz učešće hemolitotrofa ili fotosintetičkom aktivnošću hemoautotrofa. Glavne hemolitotrofne bakterije u vodenim sredinama koje koriste sumporvodonik kao izvor energije su rodovi Beggiatoa i Thiobacillus:



Elementarni sumpor koji nastaje ovim procesom, bakterije nagomilavaju intracelularno u vidu granula, a u odsustvu sumporvodonika vrše dalju njegovu oksidaciju do sulfata. Fotosintetičke sumporne bakterije takođe značajno učestvuju u procesu kruženja sumpora s obzirom na to da vrše proces oksidacije sumpornih jedinjenja do elementarnog sumpora u anaerobnim uslovima:



Glavne grupe sumpornih bakterija su predstavnici roda Chromatium koji nastali sumpor deponuju intracelularno i vrste roda Chlorobium koji sumpor izdvajaju ekstracelularno. Obe grupe ovih bakterija imaju veliki ekološki značaj, jer ovim transformacijama eliminišu toksično delovanje sumporvodonika iz sredine.

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

Biološka transformacija sulfata se može dalje odvijati na dva načina, kao disimilaciona ili kao asimilaciona redukcija. Dismilacionu redukciju sulfata vrše sulfatredukujuće bakterije (npr. *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* i dr.) koje u anaerobnoj respiraciji koriste sulfate kao krajnje akceptore elektrona. Asimilaciona redukcija sulfata podrazumeva procese koji rezultiraju nastankom sulfida koji se ugrađuju u organske molekule.

3.5. Kruženje silicijuma

Silicijum je drugi po zastupljenosti element (nakon kiseonika) u prirodi gde se obično javlja u vidu silicijum dioksida (SiO_2). Nalazi se u zemljištu, stenama kao slobodan ili u vidu kompleksnih silikata. U vodenim sredinama se iz stena Si otpušta u vidu silicijumske kiseline (H_2SiO_4) koja predstavlja formu dostupnu slatkovodnim organizmima. Pored tog oblika u vodi mogu biti prisutni i koloidne forme silicijuma i glina koji iako nisu dostupni organizmima, imaju važnu fizičko-hemijsku ulogu u slatkovodnim ekosistemima jer adsorbuju glavne nutrijente kao što su fosfati i amonijum joni.

Hemijska transformacija silicijuma u slatkovodnim ekosistemima je relativno jednostavna u poređenju sa azotom i fosforom, a podrazumeva prevođenje nerastvorljivih u rastvorljive forme. Silicijum je organizmima dostupan u reaktivnoj formi (silicijumska kiselina) ali je njegovo korišćenje ograničeno na određene fitoplankonske grupe poput silikatnih i zlatnih algi. Silicijum se u najvećoj meri usvaja od strane silikatnih algi (koje imaju najvažniju ulogu u kruženju ovog elementa), za potrebe formiranja silikatnih frustula što predstavlja jednu od najvećih bioloških transformacija u vodenoj sredini. Na taj način započinje lanac ishrane, kojim se silicijum prenosi na više trofičke nivoe. Kondenzacija silicijuma od strane dijatomeja je specifično svojstvo svake vrste što uslovljava izuzetan morfološki diverzitet i jedinstvenu ornamentiku pancira ovih algi. Osim što je važan konstituent ćelijskog zida dijatomeja, silicijum može imati određeni biološki značaj i za druge slatkovodne mikroorganizme. Panciri nakon ugibanja algi se talože na dnu formirajući dijatomejski mulj. Solubilizacija silicijuma iz ćelijskog zida ovih algi je veoma važno za regeneraciju silicijumske kiseline u vodenom ekosistemu.

3.6. Ciklusi mikroelemenata

Pored organogenih elemenata u vodenoj sredini je od izuzetne važnosti prisustvo mikronutrijenata koji su potrebni organizmima u malim količinama. Ti mikronutrijenti uključuju neke anjone i katjone i čitav niz mikroelemenata poput Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Ba, Cd, V. Koncentracija ovih mikroelemenata u prirodnim vodama varira u zavisnosti

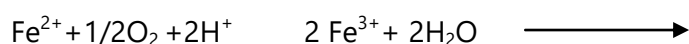
3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

od hemizma vode i sezonskih faktora, ali se prosečne koncentracije kreću od 1-500 µg/L za Fe i Mn, 1-15 µg/L za Cu i Zn, i u tipičnom slučaju <1 µg/L za Co, Mo, Cd i V.

3.6.1. Kruženje gvožđa

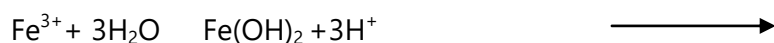
Mikroelementi imaju važnu ulogu u rastu i metaboličkoj aktivnosti organizama. Gvožđe je jedan od najvažnijih iz ove grupe s obzirom da je ključan za aktivnost određenih enzima. U vodenim ekosistemima gvožđe je prisutno kao slobodno katjonsko gvožđe, helatno gvožđe i neorganski precipitat. Koncentracija ovog elementa u vodenim sredinama su obično najniže u epilimnionu, a najveće u sedimentu. U jezerima i rekama ukupna količina gvožđa (rastvorljiva i nerastvorljiva komponenta) može da dostigne vrednost od 10 mg/L. Iako je jedan od najrasprostranjenijih elemenata u prirodi, mali deo je podložan biološkoj transformaciji i direktnom unosu od strane mikroorganizama.

Kruženje gvožđa se odvija oksidoredukcionim procesima u kojima se vrši prevođenje odnosno oksidacija rastvorljivih oblika (fero jon - Fe^{2+}) u nerastvorljive (feri jon - Fe^{3+}), kao i redukcija feri u fero jon. Procesi navedenih biotransformacija se odvijaju uz učešće tkz. gvoždevitih hemolitotrofnih acidofilnih bakterija (npr. *Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* i dr.) koji oksidacijom fero jedinjenja obezbeđuju energiju:



Ovi mikroorganizmi se često javljaju u kiselim izvorima i jezerima. U neutralnim i baznim sredinama ovakvu transformaciju vrše vrste rodova *Hyphomicrobium*, *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Sphaerotilus* i dr. Mnogi od njih tokom ovih procesa vrše taloženje oksida gvožđa na površini ili u omotaču ćelija, koji nakon uginuća bakterija služe kao polazni materijal za stvaranje ruda gvožđa u jezerima i močvarama. Takve vode na dnu imaju vidljive crvenkaste prevlake zbog oksida gvožđa inkrustriranog u ćelijskom omotaču bakterija.

Redukcija feri jedinjenja je proces koji se odvija uz učešće specifične fiziološke grupe bakterija koje se obično nalaze u akvatičnom sedimentu i zemljištu:



Najznačajniji predstavnici koji vrše ovakvu biohemijsku transformaciju pripadaju rodovima *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes* i dr.

Kompleksne forme gvožđa u vodenoj sredini nisu dostupne za direktno usvajanje od strane algi. Taj problem se prevazilazi unutrašnjim biohemijskim promenama i/ili produkcijom specifičnih jedinjenja. Tako neke vrste modro-zelenih algi imaju izraženu sposobnost hvatanja gvožđa produkcijom ekstracelularnih gvožđe-specifičnih helatnih agenasa "siderofora". Ova jedinjenja doprinose rastvorljivosti i usvajanju Fe^{3+} u sredinama

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

gde je dostupnost ovog oblika gvožđa ograničavajući faktor rasta. Pretpostavlja se da siderofori ovih algi funkcionišu u dvostepenom procesu:

- otpuštanje hidrofилnih hidroksamat tip siderofora u mikrokruženje, što rezultira vezivanjem feri jona i povećanju njegove rastvorljivosti;
- razmena Fe^{3+} vezanog za hidroksamat sa površinski vezanim hidrofobnim katehol-tipom siderofora koji transportuje gvožđe u ćeliju.

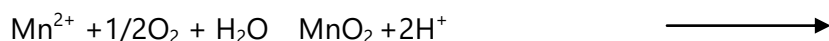
Smatra se da ovakav dvostepeni proces predstavlja značajnu prednost za vodene mikroorganizme u odnosu na jednostepeni proces koji se javlja u terestričnim ekosistemima.

U vodenim sredinama umerenog klimatskog područja, količina dostupnog gvožđa varira sezonski. Takve pomene uključuju međusobno povezane interakcije između ukupnog rastvorljivog gvožđa i jonskih vrsta (feri/fero) kao i kompleksne interakcije između vodene kolone i sedimenta. Sezonske promene naročito dolaze do izražaja u eutrofnim vodama, gde nivo oksigenacije u hipolimnionu i sedimentu varira od aerobne do veoma redukovane. Tokom zimskog perioda gvožđe se javlja u velikoj količini u oksidovanom stanju u oksigenisanoj vodenoj koloni i aerobnoj površini sedimenta. U tom slučaju gvožđe je u rastvorljivoj formi (Fe^{3+}) vezan za DOC i u vidu nerastvorljivih precipitata hidroksi i fosfatnih anjona na površini sedimenta. Feri oblik može takođe da formira niz nerastvorljivih oksida i oksihidroksida.

3.6.2. Kruženje mangana

Mangan je mikroelemenat koji je kao i gvožđe potreban živim organizmima u vrlo malim količinama zbog njegove uloge u metaboličkim procesima i stimulaciji rasta.

Sezonske promene u količini mangana u vodenim ekosistemima pokazuju sličnost sa ciklusom kruženja gvožđa. Ovaj elemenat se naizmenično javlja u vidu nerastvorljivog oksidovanog stanja (Mn (III), Mn (IV)) u aerobnoj sredini i u rastvorljivom obliku (Mn (II)) kada je nivo kiseonika u sredini značajno niži:



Akvatične vrste bakterija rodova *Gallionella*, *Metallogenium*, *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* su glavni akteri oksidacije mangana. Oksidovane forme mangana se u uslovima niske koncentracije kiseonika transformišu u jedinjenje koje je lako dostupno organizmima, dok se oksidacija redukovane forme dešava sporo pri blago kiseloj do neutralnoj sredini uz najčešće učešće bakterija roda *Metallogenium*. Mali deo oksidovane forme mangana mogu formirati helate sa organskim jedinjenjima, kao i nerastvorljive komplekse flokula sa velikim sadržajem Ca, Mg, Si, P, S, Cl, K i Br_2 koji

3. KRUŽENJE MATERIJA U VODENOJ SREDINI

se talože na dnu vodene kolone, uklanjajući na taj način mangan i druge mikronutrijente iz planktonskog okruženja.

Literatura:

1. Sigeo D.C. (2005): Freshwater microbiology. John Wiley & Sons Ltd, UK, ISBN 0 471 48529 2, p.517.
2. Čomić Lj. (1999): Ekologija mikroorganizama. Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac.
3. Jyothi K., Krishna Prasad M., Mohan Narasimha Rao G. (2016): Alage in fresh water ecosystem. Phycos, 46 (1):25-31.

4. BIODIVERZITET I AKTIVNOST ALGI U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA

Konverzija svetlosne energije i primarna produkcija organskih materija se u vodenim ekosistemima odvija aktivnošću tri grupe organizama - biljaka (makrofiti), algi i fotosintetičkih bakterija. Alge su ključni mikroorganizmi u tim procesima, koje se odlikuju prisustvom hlorofila a kao glavnog fotosintetičkog pigmenta. One uključuju i jednu grupu prokariotskih mikroorganizama, modro-zelene alge (cijanobakterije), koje se razlikuju od drugih fotosintetičkih bakterija po veličini ćelija, pigmentnom sastavu, oksigenoj fotosintezi, fiziologiji, zbog čega su od njih i izdvojene kao posebna grupa u okviru domena Bacteria.

Pored zahteva za svetlost (fototrofi), većina algi su autotrofi koji koriste ugljen-dioksid kao primarni izvor ugljenika za odvijanje metaboličkih procesa biosinteze. Iako su većina tipični autotrofi, neke od njih imaju sposobnost da koriste i organske materije kao izvor organogenih elemenata, i često zahtevaju organske faktore rasta (kobalamin, biotin, tiamin) u malim količinama.

Slatkovodne alge odlikuje veliki morfološki diverzitet, pri čemu u pogledu veličine talusa mogu biti mikroskopskih dimenzija (jednoćelijske i kolonijske alge) - MIKROALGE ili u vidu makroskopskih formi sa vegetativnim telom sličnim biljkama -MAKROALGE. Planktonske alge su tipične mikroalge i krucijalni su deo mikrobijalnih zajednica vodenih ekosistema. Za razliku od njih bentosne i pričvršćene alge najčešće su makroskopski dimenzija.

4.1. Glavne grupe slatkovodnih algi

Slatkovodne alge se ne javljaju kao formalna taksonomska grupa organizama, već predstavljaju raznovrsnu kolekciju razdela sa članovima koji dele zajedničke opšte osobine. Smatraju se kosmopiltskom grupom sa stotinama hiljada vrsta, različitog oblika i veličina talusa. Heterogenost slatkovodnih algi naglašava činjenica da su one podeljene između dva glavna domena živih organizama, Bacteria (prokariotska grupa koja uključuje modro-zelene alge odnosno cijanobakterije) i Eukarya (uključuje sve eukariotske alge). Trenutne klasifikacije tretiraju većinu algi kao protiste sa hloroplastima, s izuzetkom pomenutih cijanobakterija i grupe Charales, koje se u novijim klasifikacijama ne smatraju tipičnim predstavnicima algi (Patterson, 2014). Razvojem i primenom novih molekularnih metoda u taksonomiji, sistematici i evoluciji algi, raznolikost ove grupe organizama

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

postaje još upečatljivija. Iako među fikolozima ne postoji konsenzus u pogledu tačnih grupa, one su ovde podeljene u 10 osnovnih razdela ili klasa. Podaci o glavnim karakteristikama ovih razdela sumirani su u Tabeli 1 (mikroskopski izgled, pokretljivost i stanište) i Tabeli 2 (biohemijske i citološke karakteristike), sa opisom svake grupe u odeljku 9.1.3.

Alge se smatraju divergentnom (polifiletskom) grupom organizama koje se odlikuju nekim zajedničkim opštim karakteristikama: vodeni organizmi, fotosintetski način ishrane (hlorofil a), jednostavne vegetativne strukture bez vaskularnog sistema i složenih reproduktivnih tela. Međutim, među njima postoje i brojni izuzeci kako u pogledu staništa tako i u pogledu načina ishrane.

Tabela 19 Osnovne karakteristike slatkovodnih algi

Razdeo/ klasa algi	Tipična boja	Tipična morfologija slatkovodnih vrsta	Pokretljivost	Akvatično stanište	Tipični predstavnici
Modro-zelene alge (Cyanophyta)	Modro- zelena	Mikroskopske i vidljive golim okom- kolonijske i filamentozne	Regulacija plovnosti (pseudovakuole) , neke mogu da klize	Jezera, reke, potoci – planktonske ili pričvršćene	Microcystis, Anabaena, Aphanizomenon, Planktothrix, Nostoc, Phormidium
Zelene alge (Chlorophyta)	zelena	Mikroskopske i vidljive golim okom- jednoćelijske, kolonijske, končaste	Neke su pokretne zahvaljujući flagelama	Jezera, reke, estuari – planktonske ili pričvršćene	Chlamydomonas, Cosmarium, Scenedesmus, Pediastrum, Zygnema, Spirogyra, Cladophora
Euglenoidne alge (Euglenophyta)	Različite boje	Mikroskopske- jednoćelijske	Pokretne zahvaljujući flagelama	Jezera- planktonske	Euglena, Phacus, Trachelomonas

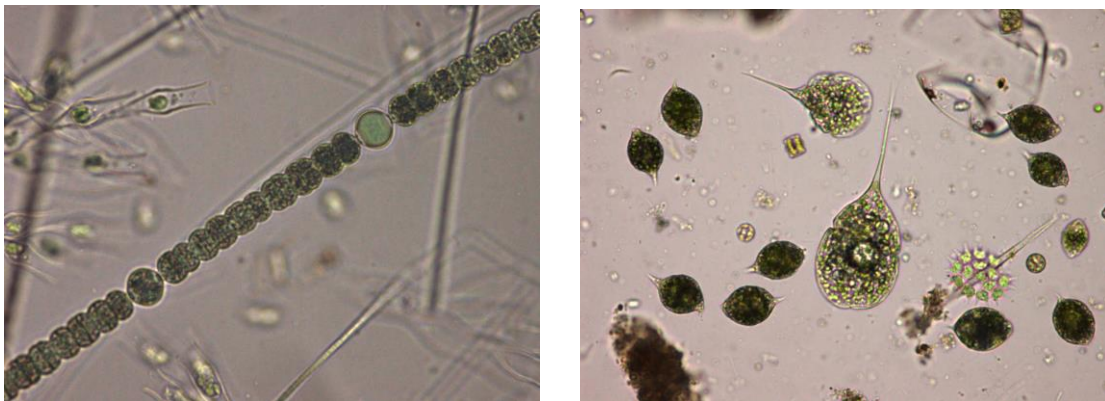
4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Razdeo/ klasa algi	Tipična boja	Tipična morfologija slatkovodnih vrsta	Pokretljivost	Akvatično stanište	Tipični predstavni
Žuto-zelene alge (Xanthophyta)	Žuto- zelena	Mikroskopske i vidljive golim okom- jednoćelijske sifonalne, končaste	Flagelatne i neflagelatne forme	Planktonske, bentosne i epifitske, širok raspon staništa	Tribonema, Vaucheria
Vatrene alge (Dinophyta)	Crveno- braon	Mikroskopske- jednoćelijske	Pokretne zahvaljujući flagelama	Jezera, reke, estuari – planktonske	Peridinium, Ceratum
Kriptomonade (Cryptophyta)	Različite boje	Mikroskopske- jednoćelijske	Pokretne zahvaljujući flagelama	Jezera- planktonske	Rhodomonas, Cyanomonas, Cryptomonas
Zlatne alge (Chrysophyta)	Zlatno braon	Mikroskopske- jednoćelijske i kolonijske	Mnoge pokretne zahvaljujući flagelama	Jezera, reke, potoci – planktonske	Mallomonas, Dinobryon
Silikatne alge (Bacillariophyta)	Zlatno braon	Mikroskopske- jednoćelijske i kolonijske	Neke pokretne zahvaljujući rafi	Jezera, reke, estuari – planktonske ili pričvršćene	Melosira, Synedra, Cocconeis, Navicula, Cymbella, Gomphonema
Crvene alge (Rhodophyta)	Crvena boja	Mikroskopske i vidljive golim okom- jednoćelijske, kolonijske, končaste	Nepokretne	Uglavnom potoci, neka jezera- pričvršćene	Batrachospermum
Mrke alge (Pheophyta)	Braon boja	vidljive golim okom- višećelijski talusi	Nepokretne (pokretni stadujumi u procesu razmnožavanja)	Jezera potoci, - pričvršćene	Pleurocladia Heribaudiella

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Mikroskopskom analizom vodenih uzoraka moguće je uočiti širok spektar morfologije i veličine algi (Slika 1), pri čemu se u okviru algalnih zajednica mogu registrovati od jednoćelijskih do končastih oblika različitih boja, prisustva ili odsustva spoljašnjeg sloja sluzi, izraštaja i pokretljivosti. Slatkovodne alge mogu imati sledeće tipove talusa: 1. jednoćelijski (rizopodijalni, monadni i kokoidni), 2. kolonijalni i cenobijalni (monomorfne ili polimorfne kolonije/cenobije, pokretne ili nepokretne), 3. kapsalni, 3. cenocitičan (sifonalni - jednoćelijski sa velikim brojem jedara), 4. višećelijski končast (negrnat ili razgranat), 5. pseudoparenhimatičan, 6. parenhimatičan kormoidan talus.

Brojni predstavnici algi imaju sposobnost kretanja u vodenoj sredini. Pokretljivost se javlja kako na čvrstim površinama (bentosne alge) tako i unutar vodenog stuba (planktonske forme) i uključuje aktivne (istiskivanje sluzi, cilije i bičevi) i pasivne (mehanizmi uzgona) mehanizme. Planktonske dijatomeje su nepokretne i u zavisnosti od kretanja vode one mogu održavati ili menjati svoj položaj unutar vodenog stuba. U okviru eukariotskih slatkovodnih algi javljaju se tri grupe - euglenoidne, dinoflagelatne i kriptomonade, koje su tipične jednoćelijske i zahvaljujući postojanju bičeva aktivno pokretne (monadne alge).



Slika 1 Taksonomska raznovrsnost planktonskih slatkovodnih algi: (foto Simeunović)

Alge su prisutne u svim slatkovodnim sredinama uključujući lotičke i lentičke sisteme, snežna polja, aerosol i niz vodenih sredina sa ekstremnim uslovima poput npr. gežira. U okviru lotičkog i lentičkog sistema, određene grupe algi (euglenoidne, dinoflagelate, kriptomonade i zlatne) preferiraju planktonski način života, dok su druge grupe (modrozelenne, zelene i dijatomeje) podjednako zastupljene i u planktonu i u bentosu. Iako velika većina slatkovodnih vrsta algi ima široko rasprostranjenu geografsku distribuciju (kosmopolitska), postoje neke vrste zlatnih, zelenih, crvenih i silikatnih algi koje su ograničene (endemske) na određene geografske regije ili određena vodna tela. Takođe se relativno mali broj slatkovodnih vrsta među algama može naći u brakičnoj (delimično slanoj) vodi.

Biodiverzitet unutar glavnih grupa algi u slatkovodnim ekosistemima ukazuje na raspon staništa koja su kolonizovale i reflektuje raznolikosti genetičkih, fizioloških, biohemijskih i

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

strukturnih karakteristika koje se javljaju unutar svake grupe. Broj rodova unutar svakog razdela algi pruža uvid u indeks fenotipskog biodiverziteta.

4.1.2. Biohemijske i citološke karakteristike slatkovodnih algi

Pored morfoloških, biohemijske i citološke osobine su važni markeri u diferenciranju različitih grupa algi. Glavne biohemijske karakteristike algi uključuju pigmentni sastav, rezervne materije, sastav spoljašnjih omotača (ćelijski zid) i tipove osmotski aktivnih nisko-molekularnih organskih rastvorenih supstanci.

4.1.2.1. Pigmenti algi

U sastav fotosintetičkog aparata algi ulaze glavni i pomoćni fotosintetički pigmenti. Pigmentacija algi je uslovljena prisustvom tri grupe molekula - **hlorofili, karotenoidi i fikobilini**, od kojih su glavni hlorofili, dok se ostale grupe ubrajaju u pomoćne pigmente. Pomoćni pigmenti imaju važnu ulogu u povećavanju efikasnosti procesa fotosinteze, s obzirom da apsorbiraju svetlost onih talasnih dužina koje hlorofili ne mogu.

Zelena boja ovih organizama (zbog prisustva hlorofila) je često maskirana ili modifikovana prisustvom ostalih pigmenata. Tako se na primer zlatno-braon boja dijatomeja javlja zbog maskiranja hlorofila pomoćnim pigmentom fukoksantinom, dok modro-zelene alge imaju plavu nijansu talusa zbog prisutva plavog pigmenta fikocijanina. Pigmenti algi su u ćeliji lokalizovani u asocijaciji sa fotosintetičkim ili tilakoidnim membranama.

Hlorofili su pigmenti koji se sastoje od sistema porfirinskog prstena sa centralnim atomom magnezijuma i javljaju se kao četiri glavne vrste - hlorofil-a, -b, -c (c1, c2 i c3) i -d. Hlorofil-a se javlja u svim fotosintetskim algama kao primarni fotosintetski pigment (receptor svetlosti i svetlosne reakcije) i njegov sadržaj varira od 0,3–3 procenta suve mase algi. Ostali hlorofili funkcionišu kao dodatni pigmenti i imaju ograničenu ali karakterističnu distribuciju unutar različitih grupa algi (Tabela 2).

Karotenoidi su dugolančani molekuli koji mogu biti podeljeni u dve glavne grupe: karoteni - ugljovodonici bez kiseonika i ksantofili, njihovi kiseonični derivati. Od četiri karotena prisutna u algama, β karoten, se javlja u svim grupama algi, dok α , γ i ϵ karoteni imaju ograničenu zastupljenost samo na pojedine grupe algi (Tabela 2). Ksantofili se javljaju u vidu širokog spektra formi, sa približno 30-tak utvrđenih tipova i formiraju karakterističan obrazac distribucije unutar različitih grupa algi.

Fikobilini su crveni ili plavi pigmenti rastvorljivi u vodi koji se nalaze na membranama tilakoida unutar fikobilizoma kod modro-zelenih i crvenih algi ili unutar fotosintetske

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

membrane kod kriptomonada. Molekul pigmenta ili hromofor je tetrapirolo koji se javlja u kombinaciji sa nepigmentisanim proteinom (apoproteinom) da bi formirao fikobiliprotein. Plavi hromofor je fikocijanobilin, a crveni fikoeritrobin. Ova grupa pigmenta je izuzetno značajna jer služe kao antena pigmenti i predstavljaju važnu komponentu u ispoljavanju svojstva hromatske adaptacije.

Tabela 20 Osnovne biohemijske i citološke karakteristike slatkovodnih algi

Razdeo/klasa algi	Pigmentni sastav			Rezervna materija	Spoljašnji omotač	Fina struktura hloroplasta		Flagele (vegetativne ćelije i gamete)
	hlorofili	karotenoidi	fikobilini			Spoljašnja membrana	Grupe tilakoida	
Modro-zelene alge (Cyanophyta)	a	β	+	Cijanoficinski skrob	Peptidoglikanski zid	0 (odsustvo hloroplasta)	0 (pojedinačni tilakoidi)	0
Zelene alge (Chlorophyta)	a,b	α,β,γ		Skrob	Celulozni zid	2	2-6	0,2,4 ili više
Euglenoidne alge (Euglenophyta)	a,b	β,γ		Paramilon	Protenska pelikula	3	3	1-2 vidljiva
Žuto-zelene alge (Xanthophyta)	a,c	α,β		Hziolaminarin	Celuloza kod nekih	4	3	2 nejednaka biča (heterokonte)
Vatrene alge (Dinophyta)	a, c2	β		Skrob	Celulozna teka ili periplast	3	3	2 nejednaka biča (heterokonte)
Kriptomonade (Cryptophyta)	a, c2	α,β	+	Skrob	Celulozni periplast	4	2	2 jednaka biča (izokonte)

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Razdeo/klasa algi	Pigmentni sastav			Rezervna materija	Spoljašnji omotač	Fina struktura hloroplasta		Flagele (vegetativne ćelije i gamete)
	hlorofili	karotenoidi	fikobilini			Spoljašnja membrana	Grupe tilakoida	
Zlatne alge (Chrysophyta)	a, c1	α, β, ϵ		Hziolaminarin	Pektin, plus minerali i silicijum dioksid	4	2	2 nejednaka biča (heterokonte)
Silikatne alge (Bacillariophyta)	a, c1, c2, c3	β, ϵ		Hziolaminarin	Frustula (teka) od silicijum dioksida	4	3	1 (samo reproduktivne ćelije)
Crvene alge (Rhodophyta)	a, d	α, β	+	Floridea skrob	Zidovi sa polimernim matriksom galaktoze (polisaharidi)	2	0 (pojedinačni tilakoidi unutar hloroplasta)	0
Mrke alge (Phaeophyta)	a, c1, c2, c3	β, ϵ		Laminarin	Zidovi sa alginatima	4	3	2 nejednaka biča samo kod reproduktivnih ćelija (heterokonte)

4.1.2.2. Rezervne materije algi

Alge u ćeliji sadrže niz visoko i niskomolekularnih ugljeno-hidratnih jedinjenja kao rezervnu materiju. Visokomolekularna jedinjenja, najčešće slična skrobu, su ili -1,4 vezani ili -1,3 povezani glukani i specifično su svojstvo određenih grupa algi (Tabela 2). Prvu grupu čine tri velike podgrupe: a) α -1,4 vezani glukani u koje se ubrajaju cijanoficinski skrob (cijanobakterije), floridea skrob (crvene alge), skrob (zelene, euglenoidne alge i pršljenčice); b) β -1,3 vezani glukani: laminarin (mrke alge), hziolaminarin ili leukozin (zlatne, silikatne, žuto-zelene i vatrene alge), paramilon (euglenoidne i neke žuto-zelene alge); c) fruktozani (*Acetabularia*) inulinu sličan produkti koji se sastoji od serije 1,2 povezanih fruktoznih jedinica koje se završavaju glukoznom grupom. Ugljeni hidrati sa

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

malom molekulskom težinom uključuju: a) šećere (saharoza važna rezervna materija kod zelenih i euglenoidnih, trehaloza kod cijanobakterija i crvenih algi); b) glikozide (glicerol glikozidi, floriozidi i izofloridozidi su široko distribuirani u okviru crvenih algi); c) poliole (manitol kod mrkih i crvenih, glicerol koji se javlja kod većine algi. Rezerve proteina u vidu cijanoficina, prisutne su specifično kod modro-zelenih algi kao važan proizvod za skladištenje fiksiranog azota. Rezerve lipida su takođe često prisutne u algama, naročito kod dinoflagelata i dijatomeja. Kod pojedinih grupa algi poput modro-zelenih se u ćeliji takođe mogu nakupljati i polifosfati kao rezerva fosfora.

4.1.2.3. *Sastav ćelijskog zida*

Spoljni omotač algi je predstavljen kontinuiranom diskretnom strukturom koja može biti u vidu: ćelijskog zida (većina algi poput modro-zelenih, zelenih, mrkih, crvenih), pelikule (euglenoidne), teke (dinoflagelate), periplasta (kriptomonade) i frustule (dijatomeje). Pelikula i periplast se javljaju unutar plazmaleme, a ostali omotači su van nje. U tipičnom slučaju zidovi ćelija algi se sastoje od dve glavne komponente - fibrilarne komponente i amorfne mase. Najčešća fibrilarna komponenta je celuloza (polimer od 1,4 vezane -D-glukoza), ali mogu biti uključeni i drugi makromolekuli poput pektina, peptidoglikana (muropeptida) i proteina. Amorfne sluzne komponente su važan deo strukture ćelijskog zida crvenih (polisaharidi: agar, karagenani i gelani) i mrkih algi (alginati), ali mogu formirati i poseban sluzavi sloj kod mnogih drugih algi. Dijatomeje su jedinstvene po tome što imaju ćelijski zid koji je izgrađen od amornog, hidratizovanog silicijum dioksida koji je povezan sa proteinima, polisaharidima i lipidima.

4.1.2.4. *Citološke karakteristike*

Citološke osobine su od fundamentalnog značaja za razlikovanje algi. Osnovna podela unutar algi koja je zasnovana na građi ćelije, podrazumeva njihovo diferenciranje na prokariotske (modro-zelene alge kojima nedostaje jedro i citoplazmatske organele tipične za eukariotske ćelije) i eukariotske alge (ostale grupe). Međutim, relativno primitivna svojstva modro-zelenih algi ni na koji način ne umanjuje njihov ekološki i evolutivni uspeh i značaj u životnoj sredini poput slatkovodnih ekosistema. Unutar eukariotskih algi druge važne citološke osobine uključuju finu strukturu hloroplasta, broj i izgled bičeva i ultrastrukturu nuklearnog hromatina. Hloroplasti se razlikuju u pogledu broja spoljašnjih membrane (dve membrane omotača uz dodatne membrane hloroplastnog endoplazmatskog retikuluma) i grupisanja tilakoida - u rasponu od pojedinačnih (koji nisu grupisani) do agregata od po šest (Tabela 2). Značajna raznolikost algi se javlja u odnosu na lokomotorni aparat (broj i građu bičeva). Nekoliko grupa algi (Tabela 2) objedinjeni su u grupu heterokonte zbog prisustva nejednakih bičeva, sa jednim dugim bičem usmerenim napred koji ima izraštaje (mastigoneme) i jednim unazad usmerenim glatkim bičem. Fina struktura nuklearnog hromatina je posebno dijagnostička za jednu grupu algi (dinoflagelate), koji imaju karakteristične trajno

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

kondenzovane hromozome bez histona, zbog čega je jedro ovih algi označeno kao dinokarion, a ćelije kao mezokariotične.

4.1.3. Kratak pregled reprezentativnih slatkovodnih grupa algi

4.1.3.1. *Modrozelenne alge (Cyanophyta, Cyanobacteria)*

Modro-zelene alge koje se nazivaju još i cijanobakterijama, predstavljaju jedinu prokariotsku grupu među algama koja je po najnovijoj sistematici svrstana u razdeo Eubacteria. Izuzetno su važni činiooci perifitonskih i fitoplanktonskih zajednica, gde su prisutni kao jednoćelijski (pikoplanktoni), kolonijalni i trihalni odnosno filamentozni oblici. Smatra se da su modro-zelene alge evoluirale tokom ranog predkambrijskog doba (starost se procenjuje na oko 2,5-2,8 milijardi godina), kada su bili izloženi ekstremnim uslovima atmosfere i visokom intenzitetu zračenja (posebno UV), zbog čega spadaju u jednu od najadaptibilnijih grupa organizama na Planeti. Tokom svog dugog postojanja, kolonizovali su gotovo sva slatkovodna, morska i kopnena staništa, uključujući i takva ekstremna okruženja poput gejzira (do 70 C), hiper slanah jezera, visokih arktičkih i alpskih jezera i vrućih i hladnih pustinja. Opšti uspeh cijanobakterija u vodenom okruženju pripisuje se njihovim sledećim karakteristikama:

- Efikasni mehanizmi za sabiranje svetlosti, sa sposobnošću prilagođavanja spektralnim uslovima varijacijama u kvalitativnom i kvantitativnom sadržaju pomoćnih pigmenata –hromatska adaptacija.
- Odvijanje fotosinteze pri niskim koncentracijama CO₂ i visokim pH. Ovi uslovi su naročito izraženi tokom cvetanja u eutrofnim vodama, što najveći broj eukariotskih algi nije u stanju da toleriše.
- Otpornost na štetno zračenje stvaranjem širokog asortimana metabolita poput scitonemina i mikosporinu sličnih amino kiselina, koji deluju kao fotoprotektivna jedinjenja, apsorbujući svetlost kratkotalasnih dužina.
- Prilagođavanje temperaturnim uslovima- različite vrste mogu da rastu u ekstremno toplim ili hladnim okruženjima. U umerenim i tropskim jezerima, cijanobakterije su u stanju da održe stopu rasta na visokom nivou tokom letnjih temperatura koje inhibiraju druge alge.
- Mehanizam uzgona za pozicioniranje u vodenoj koloni uz učešće gasnih vakuola (pseudovakuola ispunjene vazduhom odnosno azotom). Ovaj energetski zavisani proces omogućava cijanobakterijama da vrše dnevnu migraciju unutar vodenog stuba između površinskog sloja (jaka svetlost i predacija) i dubljih slojeva vode (visoke koncentracije fosfata i nitrata, izbegavanje fotoinhibicije).

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

- Efikasnost unosa hranljivih sastojaka: modrozeleno alge pokazuju čitav niz karakteristika povezanih sa usvajanjem hranljivih materija:
 - oni su u stanju da dominiraju u oligotrofnom (kao pikoplankton) i eutrofnom (krupne nakupine biomase) okruženju;
 - neke modro-zelene alge mogu fiksirati gasoviti, elementarni azot, što im omogućuje da rastu pri niskim odnosima N / P;
 - akumuliraju rezerve fosfora u vidu polifosfatnih granula;
 - mogu da proizvode siderofore u uslovima nedostatka gvožđa, što im omogućuje da vezuju Fe (III) u uslovima niskog nivoa i ograničene dostupnosti u životnoj sredini;
 - ne zahtevaju egzogene izvore vitamina.
- Imaju hemijske (toksine) i fizičke (velike kolonije) mehanizme kojima se suprotstavljaju zooplanktonskim predatorima.
- Razvili su specijalizovane simbiotske asocijacije sa bakterijama, koje su posebno važne za funkcionisanje specijalizovanih ćelija heterocista.

4.1.3.2. Zelene alge (*Chlorophyta*)

Zelene alge su najraznovrsnija grupa algi čija se morfološka organizacija talusa kreće od jednostavnih jednoćelijskih do složenih kolonijalnih, končastih i kormoidnih oblika. Veliki broj predstavnika ima sposobnost aktivne pokretljivosti zahvaljujući bičevima koji u tipičnom slučaju imaju istu dužinu i građu (izokonte). Brojne predstavnike pored autotrofnog načina ishrane odlikuje i miksotrofija. Oni su važni činiooci vodenih zajednica u okviru kojih se mogu javiti i kao planktonske i kao perifitonske alge. Neki makroskopski predstavnici zelenih algi (poput rodova *Chara* i *Cladophora*) imaju izgled koji podseća na više biljke i važni su članovi perifitona. Svaka grupa unutar zelenih algi ima specifične ekološke zahteve. Tako su flagelatne forme uobičajene u stajaćim vodama bogatim hranljivim sastojcima, dok kokoidni jednoćelijski i kolonijanski oblici zahtevaju jaku svetlost, visok nivo hranljivih materija i višu temperaturu i takođe se česte u stajaćim vodama. Posebnu grupu zelenih algi čine desmidijalne alge koje su više karakteristične za bare i kanale koji imaju malu vidljivost i nizak do umeren sadržaj hranljivih materija.

4.1.3.3. Euglenoidne alge (*Euglenophyta*)

U pogledu opšte brojnosti i raznolikosti vrsta, ovo je relativno mala grupa slatkovodnih algi. Karakterišu se jednoćelijskim aktivno pokretnim talusom (monadna građa) sa obično jednim ili dva biča. Ovi organizmi mogu postati posebno brojni u fitoplanktonu stajaćih voda koje su bogate hranljivim sastojcima gde ih je lako mikroskopski identifikovani zbog jednoćelijskog aktivno pokretnog talusa. Mnogi predstavnici se odlikuju miksotrofnim i

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

heterotrofnim načinom ishrane i njihova masovna pojava ukazuje na visok stepen eutrofizacije biotopa.

4.1.3.4. **Žuto-zelene alge (*Xanthophyta*)**

Žuto-zelene alge se odlikuju velikom morfološkom raznovrsnošću (talusi su od jednoćelijskih, kolonijalnih, pa do sifonalnih i višećelijskih trihalnih). Široko su rasprostranjene i osim u slatkim vodama javljaju u širokom spektru drugih staništa. Ove alge nisu naročito istaknuti članovi slatkovodnih algalnih zajednica, jer se obično samo kokoidni oblici javljaju u značajnijem broju. Temperatura vode je važan faktor za njihovu distribuciju, pri čemu preferiraju hladnije vode.

4.1.3.5. **Vatrene alge ili Dinoflagelate (*Pyrrophyta, Dinophyta*)**

Vatrene alge su jednoćelijske pokretne alge (monadne), koje imaju dorzoventralnu građu sa jednom ili dve brazde na ćeliji. Mnogi od njih na površini ćelije imaju teku građenu od celuloznih pločica. Izrazita odlika ovih algi je da su pokretne zahvaljujući postojanju dva biča nejednake dužine i građe (heterokonte). Dinoflagelate često čine mali udeo jezerskog fitoplanktona u odnosu na broj vrsta koje obuhvataju. Međutim, velika dimenzije ovih organizama znači da je njihov doprinos biovolumenu fitoplanktonu mnogo značajniji - a oni to često čine u ukupnoj biomasi algi. Zajedno sa kolonijalnim modro-zelenim, ove alge su glavni primeri organizama koji imaju tendenciju da izazivaju cvetanje u umerenim jezerima pred kraj leta kada je stratifikacija stabilna i kada se količina hranljivih materija epilimniona smanjuje. U takvim uslovima, ovi visoko pokretni organizmi su sposobni da migriraju u hipolimnion koji je bogat nutrijentima (poput nitrata i fosfata). Brojni predstavnici ove grupe algi se odlikuju produkcijom toksičnih supstanci.

4.1.3.6. **Kriptomonade (*Cryptophyta*)**

Kriptomonadne alge su jednoćelijske aktivno pokretne alge koje su posebno raznovrsne i česte u umerenim regionima, gde se tipično javljaju kao članovi fitoplanktonskih zajednica jezera i bara. Kratki ćelijski ciklus i sposobnost aktivnog rasta kriptomonada, znači da su posebno česte tokom one faza godišnjeg ciklusa kada se voda u umerenim jezerima odlikuje visokom prozirnošću.

4.1.3.7. **Zlatne alge (*Chrysophyta*)**

Većina zlatnih algi se odlikuju velikom morfološkom raznovrsnošću, pri čemu se u slatkovodnim ekosistemima najčešće javljaju jednoćelijski i kolonijski predstavnici koji su aktivno pokretni. Pokretljivost je uslovljena postojanjem 2 biča iste ili različite dužine i građe. Tipično se javljaju u planktonskim zajednicama stajaćih voda koje imaju nizak do

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

umereno visok sadržaj hranljivih materija, umerenu alkalnost (pH blago kiselo do neutralno) i provodljivost. Pojedini predstavnici mogu se masovno razviti izazivajući cvetanje, zbog čega voda poprima karakterističan miris na ribu.

4.1.3.8. *Dijatomeje ili silikatne alge (Bacillariophyta)*

Silikatne alge su se pojavile pre 185 miliona godina i bilo ih je u izobilju u površinskim vodama u proteklih 115–110 miliona godina. Glavna biomasa dijatomeja javlja se u morskim ekosistemima, gde su najvažniji mikrobijalni primarni producenti organske materije i glavni činioци globalne fiksacije ugljenika. Ove mikroalge su takođe od velike važnosti u slatkovodnim ekosistemima (jezera, potoci i ušća), gde se javljaju i kao planktonski i kao perifitonski (biofilm) organizmi. Dijatomeje mogu biti jednoćelijske ili kolonijalne i čine jednu od najvećih klasa slatkovodnih mikroalgi. Odlikuju se specifičnom građom ćelijskog zida – frustula (teka) koji je jedinstven među živim organizmima, jer je gotovo u potpunosti sastavljen od silicijum dioksida. Zbog takve građe ovi organizmi se odlikuju posebno karakterističnom ornamentikom i dizajnom ćelije, što predstavlja važan taksonomski karakter i specifičnost su svake vrste. Veliki broj vrsta ovih algi se odlikuje i lučenjem galerte kojom se utvrđuju za podlogu. Dijatomeje slatkovodnih ekosistema su podeljeni u dve glavne grupe - centrične dijatomeje (radijalna simetrija, tipično planktonske silikatne alge) i penatne (bilateralna simetrija, mnoge bentosne vrste). Taksonomski sastav zajednica dijatomeja u vodenim sredinama pruža korisne podatke o karakteristikama životne sredine. Silikatne alge su posebno osetljive na sadržaj i koncentraciju hlorida i drugih jedinjenja (SiO, nitrati, fosfati, Fe i dr.) zbog čega se široko koriste kao bioindikator za praćenje promene saliniteta, nutritivnog statusa, kiselosti i opšteg hidrološkog stanja jezera.

4.1.3.9. *Crvene alge (Rhodophyta)*

Crvene alge su pretežno stanovnici marinskih ekosistema, sa samo 3 procenta od preko 5000 vrsta širom sveta koja se javljaju u pravim slatkovodnim staništima. Većina crvenih algi ima višećelijski (trihalan, heterotrihalan, pseudoparenhimatičan, parenhimatičan) talus složene građe, dok mali broj predstavnika ima jednoćelijski ili kolonijski tip talusa. Starost ovih algi se procenjuje na oko 2 milijarde godina. Obično naseljavaju čiste, dobro aerisane tekuće vode sa manjim temperaturnim kolebanjima. Iako se slatkovodne crvene alge (poput roda *Batrachospermum*) uglavnom nalaze u potocima i rekama, mogu se pojaviti i kao morske invazivne vrste jezera i brakičnih voda. U takvom osvajanju novih staništa pojedine crvene alge poput vrste *Bangia atropurpurea* mogu izgubiti u slatkoj vodi određena svojstva, kao što je polna reprodukcija, zadržavajući samo sposobnost bespolnog razmnožavanja monosporama. Pričvršćene crvene alge (npr. *Chroodactilon ramosum*) takođe doprinose epifitnoj zajednici slatkovodnih ekosistema.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

4.1.3.10. Mrke alge (*Phaeophyta*)

Kao i u slučaju crvenih algi, mrke alge su gotovo u celini morski predstavnici sa manje od 1 procenta prisutnih vrsta u slatkovodnim staništima. Karakterišu se višćelijskim, složenim talusima koji mogu biti na trihalnom, heterotrihalnom i kormoidnom stupnju morfološke organizacije. Pokretni stadijumi se javljaju samo pri bespolnoj ili polnoj reprodukciji. Ove vrste su potpuno bentosne, bilo da se javljaju u jezerima ili u rekama gde imaju vrlo raštrkanu distribuciju. Slatkovodne mrke alge odlikuje najmanja raznolikost od svih slatkovodnih algi sa malim brojem rodova poput *Pleurocladia* i *Heribaudiella*, koje. Njihova morfologija se zasniva na relativno jednostavnoj nitastoj strukturi (končast tip talusa), pri čemu odsustvuje složena makro-morfologija tipična za mrke alge marinskih ekosistema.

4.1.4. Taksonomija algi

Iako su vrste algi obično dobro determinisane, što je uglavnom zasnovano na morfološkim kriterijumima, često postoje velike razlike u okviru pojedinačnih vrsta u pogledu morfologije, veličine i oblika, molekularne genetike, biohemije i dugih svojstava. Ova intraspecijska varijacija je važna iz dva razloga:

- taksonomija algi: intraspecijske varijacije su relevantne za definiciju pojedinačnih vrsta, i takođe se koristi u nekim slučajevima za definisanje subspecijskih taksonomskih jedinica (podvrste ili sojevi).
- biodiverzitet: iako se biodiverzitet normalno razmatra u odnosu na raznolikost vrsta takođe postoje i varijacije unutar samih vrsta koje uslovljavaju visoku raznolikost u životnoj sredini.

Definicija vrsta algi koja je zasnovana samo na morfološkim kriterijumima može predstavljati problem u slučajevima gde kriterijumi nisu dobro definisani ili gde postoje izražene intraspecijske varijacije. Tako su na primer geografske varijacije i morfološki polimorfizam zabeleženi za brojne vrste modro-zelenih algi rodova *Microcystis* i *Anabaena*, kao i razlika u morfologiji čitavih talusa i ćelija u okviru iste vrste.

U cilju identifikacije i određivanja taksonomske pripadnosti algi najčešće se pored morfoloških, koriste i biohemijski, fiziološki i molekularno - genetički kriterijumi.

Pored ključnih biohemijskih razlika koje postoje između glavnih grupa algi (Tabela 2), varijacije u hemijskom sastavu se takođe javljaju i na nivou podvrste. Hemijska i biohemijska analiza intraspecijske varijacije može se izvršiti na različite načine, pri čemu se kao važni pokazatelji uzimaju enzimski sastav, lipidni sastav odnosno masno-kiselinski sastav (FAME), odnos izotopa i elementarni sastav.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Molekularno-genetičke analize najčešće podrazumevaju izolaciju, ekstrakciju i sekvenciranje DNK laboratorijskih uzoraka i prirodnih uzoraka slatkovodnih algi. U slučaju prokariotskih (modro-zelene alge) organizama uključene su analize nukleoidne DNK, dok se u slučaju eukariotskih algi ispituju genske sekvence prisutne u jedarnoj, mitohondrijskoj i hloroplastnoj DNK. Takve DNK studije na slatkovodnim algama pružile su nove pristupe u njihovoj taksonomiji sa aspekta:

- razumevanje filogenetskih odnosa,
- molekularnu karakterizaciju i identifikaciju glavnih taksonomskih grupa, vrsta i podvrsta u uzorcima životne sredine
- identifikaciju i karakterizaciju genske aktivnosti (ekspresija gena) koja je relevantna za životnu sredinu i biotičke interakcije.

4.2. Aktivnosti algi unutar slatkovodne životne sredine

U vodenoj sredini alge ispoljavaju čitav niza aktivnosti koje imaju ogroman značaj za celokupan živi svet i funkcionisanje vodenog ekosistema u celini. Najvažnije među njima su:

Primarna produkcija organske materije - odgovorni su za više od 40% primarne produkcije na Zemlji. Proces primarne produkcije koristi ugljen dioksid, što pomaže u regulaciji nivoa ugljen dioksida u atmosferi, a sa druge strane generiše kiseonik neophodan oksifilnim organizmi za opstanak. Alge same stvaraju i sopstvenu energiju iz svetlosne, dok ih drugi organizmi direktno ili indirektno konzumiraju kao izvor ugljenika.

Osnova lanaca ishrane u vodi - mreža ishrane je kompleksna mreža u kojima članovi za svoj opstanak zahtevaju izvore organskog ugljenika. U takvim trofičkim lancima u vodi fitoplankton je prva karika s obzirom na svojstvo autotrofije kojom obezbeđuje organsku materiju za sopstvene potrebe i potrebe dugih organizama.

Produkcija kiseonika - fitoplanktonske alge su sposobne da vrše oksigenu fotosintezu, što znači da kao donor vodonika (elektrona) koriste vodu, a kao bioproduct oslobađaju kiseonik i povećavaju stepen zasićenja vode kiseonikom čime stvaraju uslove za bržu mineralizaciju organskih materije. Smatra se da su s obzirom na svoje kosmopolitsko rasprostranjenje, alge i cijanobakterije odgovorne za skoro polovinu količine kiseonika prisutnog u vodi i atmosferi. Sa druge strane fiksacijom ugljen dioksida pomažu u regulaciji neorganskog ugljenika u atmosferi i pritom koriste sličnu količinu ugljen dioksida kao sve kopnene biljke zajedno. Takvim procesom pomažu u regulaciji klimatskih uslova na planeti i održavanju globalne temperature.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Činioci procesa prečišćavanja voda - koriste dostupne rastvorene materije, a neke elemente poput teških metala mogu da akumuliraju.

Fiksacija elementarnog azota iz atmosfere (svojstvo modro-zelenih algi) - svi organizmi zahtevaju velike količine azota za svoj metabolizam, a cijanobakterije igraju važnu ulogu u obezbeđivanju dostupnosti atmosferskog azota u ciklusima kruženja u prirodi.

Pružaju stanište i zaklon brojnim vodenim organizmima – sklonište su brojnim beskičmenjacima i ribama.

Važni bioindikatori u monitoringu kvaliteta životne sredine - praćenje obilja i sastava vrsta može biti korisno za identifikovanje promena u kvalitetu vode.

4.2.1. Planktonske i bentosne alge

Jedna od najvažnijih karakteristika algi je njihova izvanredna fiziološka plastičnost i adaptivna sposobnost na različite uslove spoljašnje sredine. Takva svojstva dovode do pojave velikog broja ekoloških grupa algi koje su u vodenim sredinama predstavljeni dvema najznačajnijim grupama: planktonske i bentosne alge.

Bentosne alge su one koje svoj životni ciklus provode na dnu vodenog ekosistema i obično su pričvršćene za podlogu, dok su planktonske one koje životni ciklus provode u slobodnoj vodenoj masi. Bentosne alge su prisutne u donjim slojevima i u sedimentima, gde postoje odgovarajući uslovi osvetljenosti za procese fotosinteze i rasta. U pogledu primarne produktivnosti, one čine zasebnu zajednicu (perifiton) u odnosu na pelagijske alge (fitoplankton), koje vrše proces fotosinteze, rastu i vegetativnu fazu provode u vodenoj koloni. Dve zajednice su ekološki povezane, ali s obzirom na to da pojedine vrste doprinose obema populacijama, između ove dve grupe se javljaju određene dinamičke interakcije.

Postoje opšte karakteristike koje razdvajaju ove dve glavne grupe algi. Fitoplankton se obično sastoji od mikroalgi (<200 μm prečnika), dok je perifiton mešavina mikro i makroalgalnih vrsta (> 200 μm). Posebne taksonomske grupe, kao što su nitaste zelene alge i penatne dijatomeje su tipične za bentosne uslove, dok su kolonijske zelene alge i centrične dijatomeje karakteristične za pelagijsku sredinu. Među njima postoje i razlike u pogledu morfoloških i fizioloških osobina. Strukture za pričvršćivanje nitastih algi i rafe, sluz i stabljike penatnih dijatomeja su tipične adaptacije na bentosnu životnu sredinu. Suprotno tome, razvoj pokretnih mehanizama (bičevi, gasne vakuole) tipična su adaptacija za planktonski način života. Osim toga ove dve grupe se razlikuju i po tome što bentosne vrste algi odlikuje veća specifična težina (veća brzina taloženja) i prilagođavanje na veću raznolikost hranljivih materija u bentosnoj sredini.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Razlike između planktonskih i bentosnih algi javljaju se i u odnosu na strukturu i položaj zajednica. Za razliku od dispergovanog stanja fitoplanktonskih algi, bentosne alge su blisko povezane sa kompaktnom perifitonskom podlogom. Ovo utiče na rast njihovih ćelija, unos hranljivih sastojaka i stopu primarne produkcije. Interno senčenje rezultira širokim varijacijama u fotosintetičkoj aktivnosti u gustoj perifitonskoj biomasi, što dovodi do glavnih razlika u odnosu intenziteta zračenja i fotosinteze (P – I) između fitoplanktonskih i perifitonskih zajednica. Lokacija i blizak raspored bentosnih algi takođe utiču na način na koji se ovi organizmi pasu. Za razliku od dispergovanog hranjenja fitoplanktona od strane zooplanktona (uglavnom rakova), bentosne alge se uglavnom uklanjaju struganjem i sakupljanjem od strane bentosnih mekušaca i larvi insekata.

Slatkovodne alge dele jednu važnu karakteristiku sa drugim jezerskim mikroorganizmima (kao što su bakterije, gljive i protozoe) - pojedinačne vrste imaju u tipičnom slučaju, obe, pelagijsku (prisutna u glavnoj vodenoj masi) i bentosnu (povezane sa sedimentom) fazu. Kod vrsta koje su uglavnom planktonske, bentosna faza može biti jednostavno metabolički neaktivna u vidu otpornih spora koje nepovoljne uslove preživljavaju u sedimentima. Kod vrsta koje su prvenstveno bentosne, planktonska faza može nastati odvajanjem pojedinačnih ćelija ili fragmenata talusa, ili stvaranjem gameta i zoospora kao deo životnog ciklusa. Pelagijske faze su posebno važne bentosnim organizmima za širenje i kolonizaciju novih sredina.

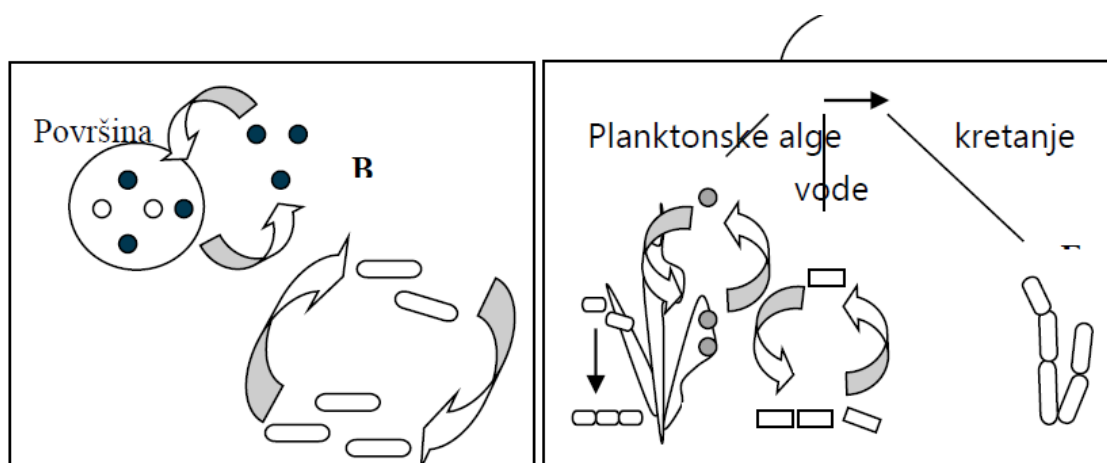
Pojava i interakcije između planktonskih i bentosnih algi prvenstveno zavise od hidrologije vodnog tela odnosno od prodiranja svetlosti do sedimenata (dubina vodenog stuba) i raseljavanja nevezanih algi vodenom strujom. Neke od interakcija između planktonske i pričvršćene faze su ilustrovane na Slici 3, koja prikazuje dve kontrastne ekološke situacije. U dubokim jezerima, gde svetlost slabije prodire sprečavajući rast bentosnih algi, populacije sedimenta uglavnom čine otporne spore - koji su u sezonskoj ravnoteži sa planktonskim populacijama. Iako nema bentosnih algi, pričvršćene alge se javljaju kao epifite koji su u ravnoteži sa slobodnim planktonskim populacijama. Ove epifitne alge su povezane sa krupnijim algama kao deo vodenog mikrokosmosa algi a takođe i sa ostalim jezerskim organizmima. Tako se na primer jednoćelijske modrozelenne alge *Cyanothece* i *Sinechococcus* povremeno javljaju kao epifite unutar kolonija *Gomphosphaeria*, a euglenoidna alga *Colacium* se javlja kao zeleni epibiont na površinskoj kutikule račića i rotifera. Nasuprot dubokim jezerima, plitki rečni sistemi obično imaju bujne populacije aktivno rastućih algi na sedimentu i epifitnih algi na makrofitama, pri čemu se obe u pogledu odvajanja i oslobađanja od podloge sposobne i za planktonsku fazu.

U jezerima su perifitonske zajednice posebno povezane sa priobalnom zonom, a prostorno su odvojena od glavnog vodnog tela u kojima dominiraju fitoplanktonske vrste. Jezerski epifiton podložan je nekim fizičkim poremećajima (talasi) sa kontinuiranim raseljavanjem i odvajanjem mikroorganizama.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Kompeticija za svetlost i hranljive materije koja postoji između planktonskih i bentosnih algi slična je interakcijama koje se javljaju između fitoplanktona i viših biljaka (makrofita). U oba slučaja, bentosni i pelagijski primarni producenti ispoljavaju različite konkurentske interakcije, koje prema Vadebonceur i sar. (2003) uključuju sledeće pojave:

- brže unošenje hranljivih sastojaka iz vode od strane fitoplanktona zbog manjeg odnosa površine / zapremine pelagijskih algi i zbog činjenice da je unos hranljivih sastojaka od strane perifitonskih algi ograničen kinetikom graničnog sloja;
- bliži pristup perifitona hranljivim sastojcima u sedimentu, što im omogućuje da regulišu dostupnost ovih resursa fitoplanktonu;
- niža dostupnost svetlosti perifitonu usled zaklanjanja fitoplanktonom, čime se ograničava produktivnost perifitona.



Slika 3 Dijagram dinamičke interakcije između slobodnih pelagijskih i nepelagijskih (bentosnih) faza u životu algi u jezerskim i rečnim sredinama. **Duboko jezero:** sediment nije unutar fotičke zone, tako da nema fotosintetskih bentosnih algi. **A-** Otporne spore bentosa stvaraju planktonske populacije i obrnuto. **B-** Neke slobodne planktonske alge se javljaju u ravnoteži sa pričvršćenim (epifitskim) populacijama koje su u asocijaciji sa velikim kolonijalnim algama i drugim organizmima. **Plitka reka:** visok nivo svetlosti podržava snažan rast zajednica epifita i bentosnih algi, koje mogu biti odvojene od podloge strujom da bi formirale fitoplankton: **Epifitne alge** prisutne na makrofitama (m) uključuju nitaste i jednoćelijske oblike: **C-** nitaste alge se mogu odvojiti da bi formirale masu filamenata (metafiton); **D-** jednoćelijske alge su u ravnoteži sa planktonskim populacijama. **Bentosne alge** (perifiton): **E-** pričvršćene mikroalge (npr. dijatomeje) odvajanjem postaju planktonske ćelije; **F-** makroskopske nitaste alge takođe se mogu odvojiti što dovodi do stvaranja planktonskih fragmenata.

Ove interakcije mogu dovesti do različitih odgovora pelagijskih i bentosnih algi u uslovima promenljive osvetljenosti i sadržaja hranljivih materija, što rezultira obrnutim odnosom između razvoja populacija tih grupa organizama u vodenim ekosistemima.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Tako na primer proces eutrofizacije može dovesti do povećane biomase fitoplanktona sa kompenzacijskim padom nivoa perifitona.

4.2.2. Veličina i oblik fitoplanktona

Slatkovodni fitoplankton, sastavljen od fotosintetičkih bakterija i algi, pokazuje u značajnoj meri varijacije u veličini i obliku pojedinih jedinki (ćelija ili kolonija), kao što je prikazano na Slici 1. Dimenzije fitoplanktona su izuzetno važne u cilju procene biovolumena, imenovanja kategorije veličine algi (od pikoplanktona do makro planktona) i biološke aktivnosti.

4.2.2.1. Broj ćelija i biovolumen

Određivanje brojnosti i diverziteta vrsta u okviru mešovitog fitoplanktonskog uzorka se obično izvodi nakon fiksiranja prirodnih uzoraka kalijum-jodidom koji se kao koncentrovani alikvot suspenzije prebacuje u komoru za brojanje (npr. Sedgvick-ov klizni preparat). Brojanje pojedinačnih vrsta se vrši uz pomoć svetlosnog mikroskopa u većem broju ponavljanja u cilju postizanja statističke validnosti. Iako brojnost pojedinih vrsta pruža korisne informacije o ukupnom broju prisutnih organizama i može biti koristan podatak za proučavanje promena populacija i biodiverziteta, ovaj parametar malo ukazuje na doprinos ukupnoj biomasi fitoplanktona. Nasuprot tome, određivanja biovolumena algi daje mnogo bolju procenu relativne biomase i pruža osnovni podatak doprinosa ukupnoj produktivnosti.

Značajan diverzitet se kod algi javlja u pogledu veličine i oblika njihovih ćelija. Glavna razlika između prokariotskog fitoplanktona (modro-zelene alge, fotosintetske bakterije) i eukariotskog fitoplanktona jeste to što se većina ćelija prokariota odlikuje malim prečnikom <5 mm. Neki eukariotski planktonski organizmi, poput heterotrofnih nanoflagelata, takođe se približavaju ovoj veličini sa opsegom prečnika obično <10 mm. Pored veličine, diverzitet oblika ćelija i kolonija je takođe važan parametar. Veličina i oblik fitoplanktona imaju važne implikacije na niz bioloških funkcija, uključujući i fiziološke procese (površinska razmena materijala, apsorpcija svetlosti, sposobnost brzog rasta), distribuciju u vodenom stubu (pasivno kretanje, taloženje, pokretljivost) i otpor prema ingestiji od strane zooplanktona.

4.2.2.2. Varijacije u veličini i obliku unutar populacije fitoplanktona

Veličina i oblik planktonskih algi imaju značajnu adaptivnu vrednost s obzirom na to da imaju direktan uticaj na stopu rasta i nestanka (sedimentacija, ispaša od strane zooplankton). Ovi parametri su stoga važni i u konkurentskim odnosima između algi, determinišući sastav određenih vrsta u vodenoj životnoj sredini i njihov individualni

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

doprinos biomasi zajednice. Razlike u veličini i obliku takođe će dovesti do razlika u odnosu površine / zapremine (S / V) ćelija i kolonija - sa rezultirajućim razlikama u njihovim fiziološkim aktivnostima. Većina studija o varijacijama veličine / oblika u populacijama fitoplanktona koncentrisanu su na razlike između vrsta (mešovite populacije), međutim plastičnost veličine unutar svake vrsta je takođe moguća i može biti od velikog značaja .

Populacije fitoplanktona uzorkovane sa određenog mesta obično sadrže mešavinu različitih vrsta sa širokim rasponom morfologije i oblika (od sferičnih jednoćelijskih i kolonijalnih oblika, preko kolonija izduženog i nepravilnog oblika, do končastih formi). U takvoj situaciji moglo bi se očekivati da se izvedeni parametri, poput odnosa S / V protežu u širokom i neograničenom opsegu. Ovu pojavu je istraživao Levis (1976) koji je ispitivao odnos između veličine jedinice (izražene kao najveća aksijalna linearna dimenzija - GALD) i odnosa površine / zapremine, 27 najrasprostranjenijih vrsta fitoplanktona tropskog jezera. Glavni zaključak tih istraživanja je bio da je odnos S / V fitoplanktona sačuvana u opsegu mnogo užem od očekivanog za slučajni izbor određenog oblika. Fitoplanktonski organizmi zauzimaju prilično uski pojas određenih veličina, u rasponu od sferičnih (nizak odnos S / V) do izduženih oblika (visok odnos S / V). Proširivanje Levisovog modela na veći spektar planktonskih algi Reynolds (1990) ukazuje na to da očuvanje odnosa S / V važi naročito za alge koje su bez sluzavih omotača, ali ne i za sluzave kolonijalne oblike.

U nesluzavom fitoplanktonu, donju granicu odnosa S / V treba očekivati, u zavisnosti od fiziologije alge, onda kada se postigne tačka u kojoj površina više nije u stanju da obezbedi metaboličku aktivnost i razmenu koja odgovara zahtevima zapremine. Sa druge strane, postojanje gornje granice S / V može izgledati iznenađujuće, s obzirom da nije jasno u smislu fiziologije ćelija zašto bi trebalo da postoji ograničenje za razvoj izmenjenih oblika i visokog odnosa S / V . Gornja granica S / V se može odnositi na potrebu za kritičnim nivoom taloženje kako bi se obezbedila kontinuirana promena mikrookoline u blizini površine ćelije. Ova promena je potrebna za efikasan proces uzimanja hranljivih materija i eliminaciju neželjenih metabolita.

Pojava sluznih kolonijalnih algi kao što je rod *Microcystis* ispod donje granice odnosa S / V , naglašava odvojenost ćelija unutar kolonije. Takva agregacija nije ograničena veličinom pošto su metaboliti sposobni da difunduju u i iz pojedinačnih ćelija kroz sluzavu masu. Fiziološki relevantan odnos S / V u slučaju ovih organizama je odnos pojedinačnih ćelija, a ne cele kolonije.

Unutar svake algalne vrste se javlja značajna plastičnost veličine talusa, pri čemu se i kod jednoćelijskih i kod kolonijalnih algi ispoljavaju velike razlike u pogledu dimenzija. Iako ova plastičnost delimično odražava očekivane varijacije u okviru normalne raspodele, ona ukazuje na to da su alge takođe sposobne da moduliraju veličinu u odnosu na funkcionalne parametre kao što je apsorpcija svetlosti i kompetitorske sposobnosti. Ovi

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

funkcionalni parametri mogu sa druge strane biti povezani sa karakteristikama životne sredine kao što je biomasa zajednice fitoplanktona, turbulencija vode i količina hranljivih materija. Tako, kontrola veličine kolonije kod na primer modro-zelenih algi može biti važna u kontroli sedimentacije i optimizaciji apsorpcije svetlosti. U studijama na jezeru bogatom hranljivim sastojcima, Robarts i Zohari (1984) su zapazili da se apsorpcija svetlosti od strane dominantne modro-zelene alge *Microcystis aeruginosa* povećava smanjenjem veličine kolonije, i da se eufotična zona shodno tome povećavala sa povećanjem veličine kolonija.

Veličina algi može takođe biti važna za opštu konkurentsku sposobnost. Uporedne studije različitih jezera sugerišu da prosečna veličina fitoplanktona ima tendenciju rasta sa povećanjem biomasa zajednice. U slučaju jezera Florida, na primer, ove studije su pokazale da prosečna veličina jedinki unutar rodova ima tendenciju rasta kao $\frac{1}{2}$ moći njihove biomase u zajednici. Ova zapažanja su protumačena kao postojanje razlika u konkurentskim sposobnostima koje se javljaju u zavisnosti od veličine, s tim da su male alge bolji konkurentski organizmi u oskudnim zajednicama, a da su krupnije alge efikasniji takmičari u gustim zajednicama. Adaptivna vrednost veličine algi naglašena je činjenicom da rodovi sposobni za velike varijacije u veličini imaju tendenciju da uspevaju i u oskudnim i u gustim zajednicama, i sveprisutniji su od rodova sa ograničenom plastičnošću svoje veličine.

Osim toga, turbulencije vode mogu imati direktan fizički efekat na veličinu ćelija i kolonija algi. Uslovi velikih turbulencija, koji se javljaju u vodenim sistemima kao što su rečne brane, dovode do razvoja populacija algi male i srednje veličine. Ovo je posebno karakteristično za alge kao što su *Microcystis aeruginosa* i *Coelosphaerium kuetzingianum*, kod kojih je zapaženo smanjenje veličine i pojavljivanje u vidu malih pojedinačnih ćelija u okviru pikoplanktona pod turbulentnim uslovima.

Pored razlika u veličini i obliku, slatkovodne alge se takođe značajno razlikuju u prisustvu vanćelijske sluzi. Ovo se posebno jasno vidi u jezerskom okruženju, gde neke vrste planktonskih algi imaju ćelije smeštene u velikoj količini sluzi, dok druge uopšte nemaju izraženu sluz. Prisustvo sluznih materija se može registrovati fazno-kontrastnim mikroskopom, posebnom tehnikom negativnog bojenja i primenom fluorescentne mikroskopije preparata obojenih lektinom. Spoljni sloj sluzi povećava ukupnu veličinu i daje karakteristična površinska biohemijska svojstva ćelijama algi. Sluz ima važnu ulogu u biologiju ovih organizama, a osim toga i ima ekološki značaj u biogeohemijskim ciklusima kruženja elemenata. Čak i alge koje se smatraju „ne-sluznim“ obično imaju površinski sloj od polisaharida. Tako je kombinovana analiza ugljenih hidrata i mikroskopija atomske sile pokazala prisustvo tankog sloja površinske sluzi bogat šećerom kod dijatomejske alge *Pinnularia*. Ovaj tanak sloj sluzi kod dijatomeja ima poseban značaj u odvajanju ćelijskog zida iz spoljnog vodenog medijuma i redukuje solubilizaciju silicijum dioksida u živim organizmima.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Prisustvo sloja površinske sluzi može se posmatrati kao važna ekološka strategija koja se razvila kod svih glavnih grupa algi i koja utiče na brojne karakteristike - uključujući povećanje veličine talusa (ćelije ili kolonije), približavanje sferičnom obliku, smanjenje ukupne gustine i sticanja karakteristične površinske hemije. Ova sluz je važna i za planktonske i za bentosne mikroalge. Za planktonske alge površinska sluz utiče na određene biološke aktivnosti kao što su: stopa potonuća, ispaša i digestija od strane zooplanktona, udruživanje sa epifitskim zajednicama i adsorpcija anjona i katjona. Za bentosne mikroalge površinska sluz je važna, kao što je to slučaj sa dijatomejama, u pričvršćivanju i kretanju po supstratu.

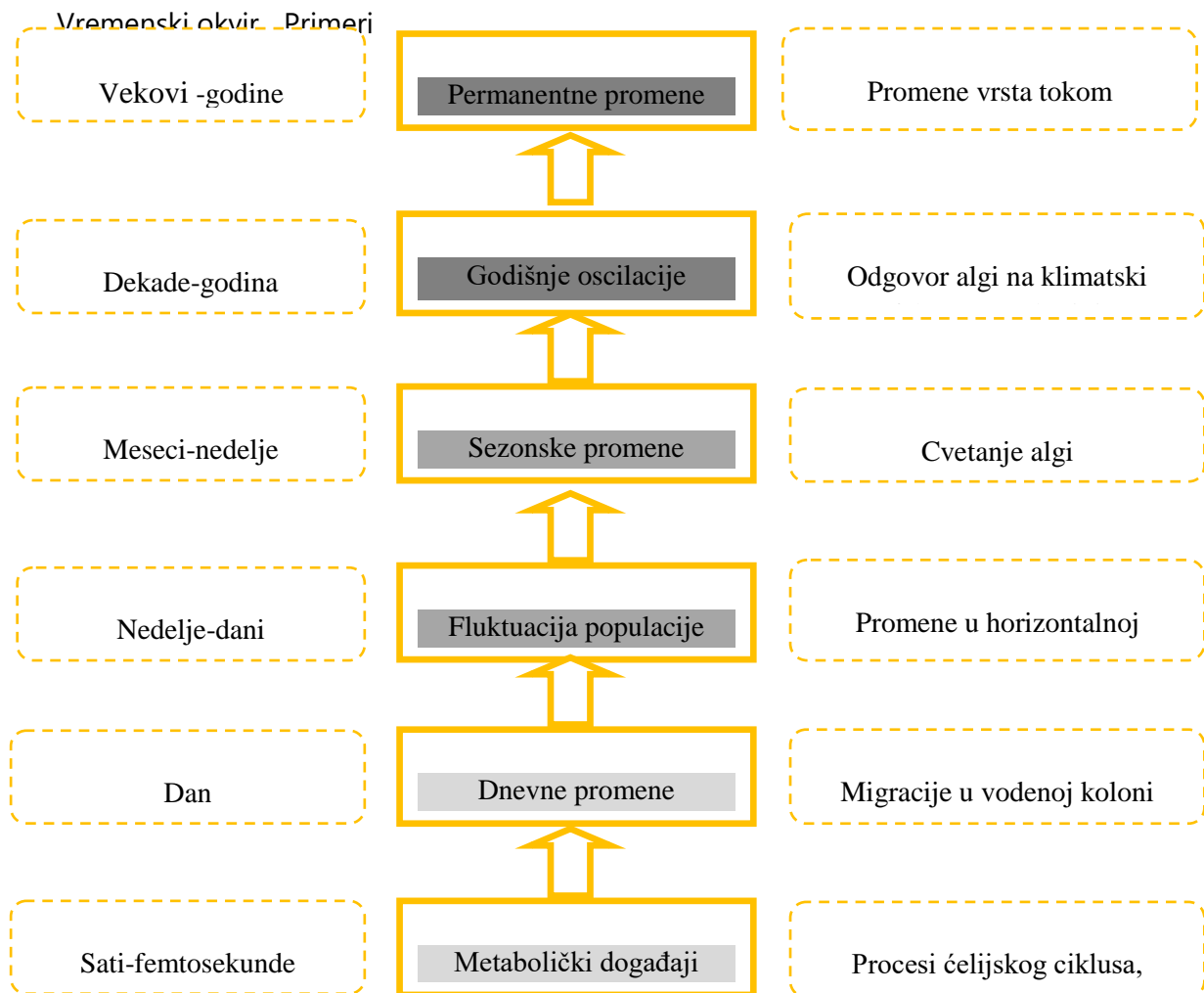
4.2.3. Privremene aktivnosti slatkovodnih algi

Na algalnu populaciju sa aspekta fotosintetske aktivnosti, uticaj ispoljavaju različiti faktori od kojih su većina sezonskog karaktera. Najsnažniji uticaj na njih ispoljava nedostatak nutrijenata. Dok sunčeva svetlost utiče na produktivnost, nivo nutrijenata utiče na rast. Populacija fitoplanktona varira sezonski, ali se koncentracije menjanju i u zavisnosti od lokacije. Očekivani nivo bi trebalo da bude u korelaciji sa podacima za dati lokalitet i sezonu prethodne godine. Ukoliko su promene tokom godine očekivane i normalne, populacija može ostati konzistentna tokom više godina. Ukoliko su koncentracije fitoplanktona abnormalno visoke ili niske za određenu sezonu, to može da ukaže na problem kvaliteta vode. Ukoliko je svetlost ograničena, produktivnost fitoplanktona će se smanjiti. To se jasno može uočiti tokom dnevnog ciklusa sa promenama nivoa kiseonika, jer koncentracija rastvorenog kiseonika raste tokom dana (fotosintetska produkcija), a opada noću (fitoplanktonska respiracija). Ukoliko je svetlost minimalna ili je nedostupna duži vremenski period vodeni organizmi će brže konzumirati rastvoreni kiseonik nego što fitoplankton može da ga nadomesti, dovodeći do naglog pada nivoa rastvorenog kiseonika, što može imati ozbiljne posledice po živi svet. Sa druge strane i prevelika količina svetlosti može biti štetna za fitoplanktonske organizme i fotosintezu. Tako UV zračenje može oštetiti DNK u ćelijama, inhibirajući i fotosintetički put. Tokom sunčanih dana UVB zraci mogu smanjiti primarnu produkciju za oko 9%. Zbog toga se maksimalna stopa fitoplanktona javlja ujutro a opada u podne. Nutrijenti su od ključnog značaja za rast i reprodukciju fitoplanktona, naročito azot, fosfor i gvožđe, silicijum i kalcijum za pojedine grupe. Ukoliko se poveća koncentracija nutrijenata, posebno fosfora, to će dovesti do intenzivnog razvoja fitoplanktonskih algi što može rezultirati pojavom cvetanja.

Slatkovodno okruženje je relativno nestabilno i podložno je kao što je već pomenuto kontinuiranim promenama, varirajući od prolaznih promena određenih faktora sredine (npr. intenzitet svetlosti) do dugoročnih promena hidrologije i klime. Sposobnost algi da reaguju na promene u njihovom mikrookruženju, a u okviru ekosistema kao celine, izuzetno je važno za njihov biološki uspeh. Privremene aktivnosti slatkovodnih algi (Slika

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

4) variraju u zavisnosti od vremenskog intervala i on uključuje kratkoročne ćelijske događaje, srednjoročne promene sukcesija algi i dugoročne promene na nivou ekosistema.



Slika 4 Privremene aktivnosti slatkovodnog fitoplanktona: vremenska skala se može okvirno podeliti na kratkoročne (donja osenčena polja), srednjoročne i dugoročne (vršna tamnije osenčena polja) periode

4.2.3.1. *Kratkoročni promene*

Kratkoročne promene (ćelijski i molekularni procesi) podrazumevaju fiziološke procese unutar ćelija algi tokom perioda koji je u rasponu trajanja od femtosekunde (10^{-15} s, npr. sabiranje svetlosti i procesi prenosa elektrona tokom fotosinteze) do nekoliko minuta i sati. Procesi kompletnog ćelijskog ciklusa pružaju primer takvih fizioloških procesa, koji se odlikuju periodom trajanja od nekoliko minuta do nekoliko sati. To npr. uključuje procese kao što je formiranje novog ćelijskog zida, koji se javlja nakon citokineze. Trajanje ćelijskog ciklusa, koje započinje nastankom ćerke ćelije od majke ćelije, preko procesa

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

rasta i podele do sledeće ćerke ćelije, značajno varira kod različitih vrsta algi. U uslovima optimalne temperature, dostupnosti hranljivih materija, svetlosti, trajanje ovog perioda prvenstveno zavisi od veličine ćelije - sa zabeleženim najkraćim ćelijskim ciklusima za pikoplanktonske alge kao što je *Synechococcus* gde trajanje ćelijskog ciklusa može biti samo 2 sata. Minimalna dužina trajanja ciklusa nanoplanktonskih algi, poput vrsta rodova *Chlamydomonas* i *Chlorella*, je oko 6 sati, dok je za krupnije jednoćelijske organizme (npr. dinoflagelate) i kolonijalne oblike karakteristično da imaju mnogo duže ćelijske cikluse. Ukupno trajanje ćelijskog ciklusa zavisi od vremena koje je potrebno za udvostručavanje biomase, što sa druge strane zavisi od usvajanja dovoljnih količina hranljivih sastojaka kao što su ugljenik, azot i fosfor.

4.2.3.2. Srednjoročne promene: sukcesija algi

Sukcesija algi uključuje vremenske promene u biomasi i sastavu vrsta prirodnih populacija. Ove promene su važan aspekt vodenih ekosistema, s obzirom da definišu glavnu mikrobiološku biomasu (mikroalge) u životnoj sredini i imaju veliki uticaj na druge slatkovodne organizme.

Dobri primeri srednjoročnih promena, odnosno sukcesija, su sezonske promene u populacijama jezerskog fitoplanktona i sukcesija algi u razvoju potočnog biofilma i perifitonskih zajednica. U oba slučaja postoji jasna tranzicija algi, sa ranom sukcesijom vrsta koje se zamenjuju kasno sukcesijskim vrstama u definisanom i predvidljivom nizu. Uspeh algi u sastavu fitoplanktona razlikuje se od uspeha u sastavu biofilмова po tome što je relativno dugoročan i određen u velikoj meri abiotičkim faktorima (npr. svetlost i temperatura). Za razliku od biofilma, sezonske promene u populaciji fitoplanktona ne uključuju trajne promene ni u biološkom ni u fizičkom pogledu.

Promene u sastavu vrsta koje se javljaju tokom pelagijske i bentosne sukcesije algi često uključuju različite interakcije između njih. Ove interakcije mogu biti direktne ili indirektnе i mogu se kategorisati kao četiri glavna tipa: 1. indukovane promene životne sredine, 2. konkurencija među vrstama, 3. antagonizam vrsta i 4. nekonkurentna adaptacija.

- Indukovane promene životne sredine: uspešne vrste koje su prve u sukcesiji donose promene u lokalno okruženje koje ili olakšava ili inhibira uspostavljanje i rast narednih vrsta.
- Takmičenje vrsta: konkurencija nastaje kada organizmi zavise od istog resursa i kada je taj resurs prisutan u ograničenoj količini. Potrošnja ovog resursa od strane jedne vrste ograničava pristup drugim vrstama i smanjuje njihov rast i razvoj. Konkurencija se javlja u odnosu na tri glavna resursa - svetlost, prostor i hranljive materije.
- Antagonizam vrsta: podrazumeva direktnu inhibiciju drugih vrsta posredstvom antimikrobnih supstanci kao što su antibiotika ili toksina (npr. cijanotoksini).

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

- Nekonkurentna adaptacija: Promena vrsta je u velikoj meri određena prilagođavanjima određenim uslovi sredine koja se javljaju u različito vreme ali u kontinuitetu, a ne direktnim interakcijama između vrsta.

Sukcesije vrsta u populacijama fitoplanktona uglavnom su uslovljene nekonkurentskom adaptacijom (npr. rani prolećni rast dijatomeja u uslovima koje druge alge ne mogu podneti) i konkurentskim odnosima među vrstama. Suprotno tome, zajednica u biofilmovima i perifitonu se podjednako uslovljene svim navedenim faktorima.

U umerenom klimatskom području se tokom godišnjeg ciklusa javljaju izražene promene u ukupnoj biomasi i diverzitetu vrsta jezerskog fitoplanktona. Pojedine vrste pokazuju rafalni populacijski rast, koji obično traje 30–100 generacija, i mogu brzo da reaguje na promene uslova u životnoj sredini. Tako se sezonske promene u tipično umereno eutrofnom jezeru mogu podeliti u četiri glavne faze: prolećni dijatomejski cvet, faza bistre vode, mešovito cvetanje tokom leta i jeseni i faza zimovanja.

Bentosna kolonizacija protočnih sredina često dovodi do razvoja perifitonskih zajednica. Ovde dominiraju pričvršćene alge, međutim takve zajednice takođe sadrže i širok dijapazon drugih pričvršćenih mikroorganizama i beskičmenjaka. Razvoj i nastanak perifitonske zajednice uključuje četiri glavne faze: 1. početna kolonizacija izložene površine, 2. razvoj dijatomejskog biofilma, 3. kolonizacija biofilma filamentoznim algama što vodi ka formiranju zrele zajednice perifitona, 4. gubitak fragmenata zajednice usled strujanja vode, što dovodi do izlaganja površine i regeneracije nove zajednice.

4.2.3.3. Dugoročne promene: varijacije tokom niza godina

• Međugodišnje oscilacije

Iako jezera i rezervoari umerenih regiona obično pokazuju ponavljajući godišnji obrazac sezonskih promena, ovi slatkovodni sistemi takođe pokazuju promene od godine do godine. Takva međugodišnja promenljivost je suštinska karakteristika mnogih vodnih tela i uzrokovana je klimatskim fluktuacijama i antropogenim delovanjem. Regionalne i lokalne klimatske varijacije su odgovorne za razlike u širokom spektra parametara koji imaju direktan uticaj na populacije fitoplanktona, uključujući fizičke (vreme od razbijanje leda, dubina mešanja, vreme zadržavanja vode), hemijske (koncentracije neorganskih hranljivih materija) i biološke (preživljavanja zimskog perioda riba i zooplanktonske populacije) karakteristike. Kao rezultat ovih varijacija, populacije fitoplanktona pokazuju izrazite godišnje razlike u ukupnoj produktivnosti i precizan redosled u sukcesiji vrsta. Jezero Sanabrija (Španija) pruža dobar primer toga, gde klimatske varijacije padavina imaju značajan uticaj na vreme zadržavanja vode, utičući na akumulaciju hranljivih sastojaka i na razvoj i proliferaciju modro-zelenih algi.

• Dugoročne trajne promene u jezerima

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Dugoročne promene uključuju trajnije promene u odnosu na međugodišnje oscilacije, koje se protežu na period duži od 10 godina, a u nekim slučajevima i stotine godina. Ove hronične promene se odnose na unutrašnje faktore (kao što je nakupljanje organskog materijala u jezeru, što dovodi do dugotrajne eutrofizacije) ili na spoljašnje promene poput zagađenja teškim metalima, dodatnog unosa hranljivih sastojaka (eutrofizacija) i efekta kiselih kiša (zakišeljavanje). Samim tim dugoročne promene u populacijama algi mogu biti utvrđene analizom sedimenta u odnosu na: zagađenje teškim metalima, proces eutrofizacije i acidifikaciju. Potvrda dugoročnih promena ekologije vodenog ekosistema i rezidencijalnog fitoplanktona zahteva obimnije serije podataka, koje se mogu dobiti analizom jezerskog sedimenta. U mnogim jezerima dolazi do neprekidnog taloženja i fitoplanktonskih i bentosnih algi tokom dužeg vremenskog perioda, što dovodi do formiranja dobro očuvanih hronoloških slojeva. Analiza dijatomeja unutar tih sedimenata je posebno korisna, jer se ovi organizmi mogu lako identifikovati na osnovu očuvane frustule a korisni su pokazatelji reakcije sredine i organskog opterećenja.

4.2.4. Distribucija fitoplanktona unutar vodenog stuba

Vertikalna distribucija fitoplanktona u stratifikovanom jezeru je vrlo dinamična i usko je povezana sa parametrima životne sredine i njihovim sezonskim / dnevnim promenama unutar vodenog stuba. To ima ključni značaj za rast i opstanak algi, a odražava se i na biologija drugih organizama kao što su bakterije, protozoe i zooplanktonski organizmi. Vertikalna raspodela fitoplanktona uključuje i dnevnu migraciju i vertikalno pozicioniranje u vodenom stubu.

Aktivna migracija podrazumeva sposobnost algi da se samostalno kreću unutar vodene mase što je omogućeno ili unutarćelijskim formiranjem gasnih vakuola (mehanizam uzgona kod npr. cijanobakterija) ili postojanjem lokomotornog aparata (bičevi kod monadnih algi). Alge (poput dijatomeja i nepokretnih zelenih algi) koji ne poseduju nijedno od ovih mehanizama nisu sposobne za samostalno kretanje unutar vodenog stuba. Tokom perioda intenzivnog rasta unutar vodenog stuba, migracija fitoplanktona uključuje dve različite ali međusobno povezane aktivnosti u odnosu na spoljne stimulse - dnevnu migraciju (kretanje velikih razmera) i dubinsku regulaciju (vertikalno pozicioniranje malih razmera). Ulazak ćelija bentosnih algi iz sedimenta u vodeni stub na početku faze rasta je glavna migraciona aktivnost tih organizama. Pojedine alge i grupe algi se razlikuju po tome u kojoj meri pokazuju dnevnu migraciju ili vertikalno pozicioniranje. Za tri grupe (zlatne, zelene alge i kriptomonade) dnevna migracija nije dobro dokumentovana, ali ove alge pokazuju snažno vertikalno pozicioniranje unutar jezerskih slojeva - u nekim slučajevima tokom dužih vremenskih perioda. Druge grupe, kao npr. dinoflagelate i modrozelenne alge, su poznate po njihovim obrascima dnevnih migracija, ali takođe pokazuju i vertikalno pozicioniranje u okviru dnevnog ciklusa.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Mnoge slatkovodne alge imaju sposobnost dnevnih migracija između površine jezera (epilimnion) i dubljih slojeva (metalimnion ili hipolimnion), krećući se uz vodeni stub tokom jutra i spuštajući se u niže slojeve tokom dana. Ova migracija omogućava organizmima da kombinuju dnevnu fotosintezu u eufotičnoj zoni sa noćnim unosom nitrata i fosfata u nutritivno bogatom hipolimnionu, što je naročito izraženo i istraženo u slučaju dinoflagelata i modro-zelenih algi.

Dnevna migracija fitoplanktona se javljaju kao direktan odgovor na promene u abiotskom jezerskom okruženju (svetlosni režim), a može dovesti i do daljih abiotskih promena, naročito u odnosu na hemizam vode. Razne studije su pokazale dnevne promene u koncentraciji rastvorenog organskog ugljenika (DOC) u jezerima, što u nekim slučajevima može biti povezano sa migracijom algi unutar vodenog stuba i dnevno ispuštanje DOC-a u epilimnion.

4.2.4.1. Vertikalno pozicioniranje u vodenom stubu

Mnoge pokretne alge su u stanju da se aktivnim kretanjem (taksije) pozicioniraju na određenim dubinama u vodenom stubu kao odgovor na spoljne stimulse. To uključuje gravitaciono polje (gravitaksije), intenzitet svetlosti (fototaksije), temperaturu i hemijske gradijente (hemotaksije) – i varijacije u koncentraciji kiseonika. Modro-zelene alge vrše regulaciju dubine mehanizmom uzgona. Ovo uključuje kontrolu ekspresije gena gasnih vakuola, kolaps vakuola promenom turgorovog pritiska i formiranje ugljenohidratnog balasta fotosintezom. Do stabilizacije na određenoj dubini dolazi kada suprotstavljene sile potiska i gravitacije budu jednake.

Regulacija dubine može uključivati dugoročno uspostavljanje stabilnih populacija na fiksnim dubinama u jezeru (nema dnevnih migracija) ili privremeno pozicioniranje u odnosu na ambijentalne uslove (u kombinaciji sa dnevnom migracijom).

4.2.4.2. Dugotrajne stratifikovane populacije algi

U termički stratifikovanim jezerima, zlatne alge, kriptomonade, flagelatne zelene alge i jednoćelijske modro-zelene alge (pikoplankton) se često javljaju kao dugoročne stabilne populacije na fiksnim dubinama u vodenoj koloni. U nekim situacijama ove alge jesu ograničene na sloj metalimniona gde se zadržavaju tokom celog leta na nižoj temperaturi i u uslovima vrlo slabog osvetljenja. Ovi nepovoljni uslovi životne sredine se nadoknađuju smanjenom ispašom od strane zooplanktona, neposrednom blizinom hranljivih sastojaka hipolimniona i sposobnošću mnogih algi da dopunjuju smanjenu fiksaciju ugljenika heterotrofnom ishranom. Takve metalimnionske alge su aktivno rastuće ćelije, formiraju značajnu biomasu (maksimum hlorofila) i nisu poreklom iz sloja epilimniona. Jezera koja razvijaju metalimnionski maksimum su često niskog nutritivnog statusa, niske produktivnosti, sa čistom vodom, i kod njih se eufotična zona proteže u

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

metalimnion. Značaj pokretljivosti u uspostavljanju zona algi potvrđuje se analizom zelenih algi, sa pokretnim predstavnicima kao što su *Pandorina* i *Volvox* koji obično formiraju uže dubinske zone u odnosu na nepokretne zelene alge kao što su *Sphaerocystis* i *Oocystis*.

4.2.4.3. Privremeno pozicioniranje algi

Mnoge pokretne alge su sposobne da izvrše brza i kratkoročna prilagođavanja dubinskog položaja unutar vodenog stuba u odnosu na promene faktora životne sredine. Odgovori pojedinih vrsta algi na pojedine stimuluse su proučavani u kontrolisanim laboratorijskim uslovima. Ove laboratorije studije često koriste kontinuirano praćenje izložene pojedinačne ćelije i cele populacije algi različitim stimulusima, a posebno su korisne jer otkrivaju:

- vrstu i preciznost odgovora,
- promene u pokretljivosti,
- promene u kratkoročnim odgovorima u okviru dnevnog ciklusa,
- negativne efekte visokog intenziteta svetlosti (fotoinhibicija) na orijentaciju i pokretljivost algi

Rezultati takvih laboratorijskih studija sugerišu da je kretanje flagelatnih algi unutar vodenog stuba prema gore pri malim intenzitetima svetlosti tipično posredovano pozitivnom fototaksijom, i potpomognuto negativnom gravitacijom. Na višim nivoima osvetljenja, kretanje ćelija je suprotno – promena ka negativnoj fototaksiji. Za razliku od toga, neki organizmi pokazuju promenu od pozitivne fototaksije ka diafototaksiji (pomeranje direktno na upadni snop svetlosti) pri većem intenzitetu svetlosti. Ovo je dokazano posebno u slučaju dinoflagelata što predstavlja efikasan mehanizam za ćelije i populaciju da ostanu u izabranom sloju unutar vodenog stuba.

Varijacije u vertikalnom pozicioniranju mikropopulacije ili pojedinačnih ćelija unutar vodenog stuba u bilo kom trenutku sugerišu značajnu heterogenost u okviru ukupne populacije u smislu ekoloških odgovora. Iako alge kao što su *Ceratium* i *Peridinium* na primer, mogu pokazivati velike nakupine na površini jezera, pojedinačne ćelije su raspoređene kroz čitav vodeni stub. Ove ćelije su u stabilnoj ravnoteži sa njihovim mikrookruženjem i imaju veći sadržaj hlorofila u poređenju sa više prisutnim ćelijama pri većem intenzitetu svetlosti. Vertikalno širenje ovih ćelija je, međutim, ograničeno na prozirne slojeve vodenog stuba. Dinoflagelate su veoma osetljive na koncentraciju kiseonika i njihove vertikalne migracije ne protežu se u anoksični hipolimnion.

Alge se takođe značajno razlikuju po brzini pozicioniranja. Modro-zelene alge su naročito sposobne za vrlo brze vertikalne pokrete prema gore (zabeležena brzina od oko 3m na sat za *Microcystis* i *Aphanizomenon*). Takve stope migracije znatno premašuju brzine

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

plivanja flagelatnih pokretnih eukariotskih algi kao što su dinoflagelate i zelene alge. Vertikalna raspodela ovih organizama može biti prilično složena, uz upornu plovnost koja dovodi do nakupljanja površinskih nakupina populacije migrirajućih ćelija.

4.3. Slatkovodne alge i status hranljivih materija životne sredine

Razvoj populacija fitoplanktona u jezera i rekama usko su povezani sa nizom ekoloških faktora, uključujući temperaturu, svetlost, rastvorljivost gasova i nivo rastvorenih neorganskih hranljivih materija u vodi. Koncentracije nitrata, fosfata i silicijuma, naročito utiču na rast, razvoj i diverzitet vrsta algi prisutnih u ekosistemu. Takvo trofično stanje slatkovodnih ekosistema ima glavni uticaj na dominantne grupe ili vrste u ekosistemu kao i na sezonsku sukcesiju fitoplanktona. Prisustvo ili odsustvo određenih grupa i vrsta algi ima značajnu dijagnostičku vrednost u proceni trofičkog statusa jezera. Iako je status hranljivih materija (posebno koncentracije fosfata i nitrata) jedan od najznačajnijih faktora životne sredine, i drugi parametri kao što su temperatura, pH, salinitet i turbulencija vode su izuzetno važni i relevantni. Tako na primer nizak nivo nutrijenata i kiselost, imaju tendenciju da budu u korelaciji sa oligotrofnim algama kao što su zlatne alge s obzirom da su tolerantne prema oba ova uslova. U slučaju zelenih i modro-zelenih algi, i u manjoj meri hrizofita, javlja se širok spektar morfologije koji je u skladu sa opsegom njihove ekološke preferencije. U svakom od ovih razdela, male jednoćelijske podgrupe imaju tendenciju da budu posebno karakteristične za oligotrofne vode, dok krupniji kolonijalni oblici dominiraju eutrofnim jezerima. Glavni ekološki zahtevi dijatomejskih predstavnika su turbulencija vode i visok sadržaj silicijuma. Iako ova grupa ne pokazuje preferencije u pogledu statusa hranljivih materija, pojedinačni članovi ipak mogu imati stroge trofičke potrebe u odnosu na sadržaj širokog spektra hranljivih sastojaka.

4.3.1. Eutrofizacija i promena fitoplanktonske zajednice

Povećan status neorganskih hranljivih materija (naročito u vezi sa raspoloživošću nitrata i fosfata) vodi ka promenama u sastavu i biomasi fitoplanktona. Iako se takve promene sadržaja nutrijenata obično razmatraju u vezi sa ljudskim aktivnostima (antropogena eutrofizacija - Poglavlje 10), takođe se one mogu javiti i kao prirodni procesi. Termin „eutrofikacija“ se prvobitno odnosio na prirodni proces starenja jezera i dugo se pretpostavljalo da su prvobitna oligotrofnna jezera „evoluirala“ u eutrofna vodna tela kao deo prirodne progresije. Iako se ovakav proces dešava u nekim slučajevima, dugoročno trajanje oligotrofnih jezera, kao što je Bajkalsko jezero (Rusija), ukazuje da to nije univerzalna pojava.

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

U jezerima u kojima se javlja „prirodna eutrofizacija“, stalni dotok vode donosi i rastvorljive hranjive materije u jezero gde ih apsorbuje fitoplankton, deponuje u biomasu i odlaže u sediment u procesu kontinuirane akumulacije. To dovodi do povećanog unutrašnjeg organskog opterećenja i sveukupnog povećanja nutritivnog statusa vode. Opseg u kojem se takav akumulirani unos može dešavati delimično zavisi od srednje godišnje koncentracije hranjivih sastojaka u ekosistemu. U slučaju fosfora, na primer, ovo se može izraziti formulom (Vollenveider i Kerekes, 1980):

$$[P_{\lambda}] = [P]_q (\tau_p - \tau_w)$$

gde je $[P_{\lambda}]$ srednja godišnja koncentracija fosfora u vodnom telu, τ_p i τ_w su odgovarajuća srednja vremena zadržavanja fosfora u vodenom ekosistemu, a $[P]_q$ je prosečna koncentracija fosfora u prilivu. Vrednosti τ_p i τ_w zavise od interne hidrologije jezera (opterećenja površine, cirkulacije vode, srednje dubine), a $[P]_q$ zavisi od spoljne hidrologije ekosistema i obuhvaćenog područja.

4.3.2. Nutritivni status i bentosne alge reka

Bentosne alge dominiraju u rečnom okruženju i sadrže složenu mešavinu algi, uključujući zelene, modro-zelene i dijatomeje. Na sastav algi u biofilmu utiče niz međusobno povezanih faktora okoline, uključujući protok vode, dubinu vode, režim svetlosti, hemizam, status hranjivih sastojaka (eutrofizacija), zagađenje i ispaša. Efekti ovih parametara su posebno dobro istraženi na dijatomejama jer se ovi organizmi javljaju u svim rekama, najveća su i najrasprostranjenija grupa algi u takvim ekosistemima, mogu se brzo i lako uzorkovati, brojne vrste su veoma osetljive na kvalitet vode (hemizam), eutrofizaciju i zagađenje, ekološki zahtevi vrsta su dobro poznati, imaju brz ciklus rasta i brzo reaguju na poremećaj životne sredine, zbog čega se i koriste kao pozdani bioindikatori.

Reke čine hemijski i biološki kontinuum, sa porastom sadržaja hranjivih sastojaka od gornjeg toka do ušća. Takve promene u fizičkim i hemijskim parametrima, praćene su promenama kvalitativnog i kvantitativnog sastava algalnih zajednica biofilma. Oni mogu podrazumevati podelu eutrofne reke u pet glavnih zona. Povećanje stepena eutrofizacije za reku koja na izvoru započinje čistom vodom (zona 1), podrazumeva povećanje unosa hranjivih sastojaka iz različitih izvora (poljoprivreda, otpadne vode) u nižim delovima toka (zona 5). Pojedine reke se razlikuju u definisanju takvih zona. Kao i kod varijacija u statusu hranjivih sastojaka jezera tako su i promene u rečnom trofičnom statusu praćene promenama i drugih parametara kao što su pH i oksigenacija. Različita trofična stanja (zone 1–5) karakterišu određene dominantne vrste i određene grupe alge.

4.3.2. Heterotrofna ishrana slatkovodnih algi

Većina slatkovodnih algi su tipični fotoautotrofni, koji vrše oksigenu fotosintezu sintetisajući složena organska jedinjenja od neorganskih prekursora, međutim neke alge imaju takođe mogućnost heterotrofne ishrane. Ovi organizmi su u stanju da koriste organska jedinjenja kao eksterne izvore energije neophodne za metabolizam i rast. Sposobnost nekih algi da autotrofnu ishranu dopune ili nadomeste usvajanjem organskog ugljenika iz okoline (miksotrofija ili heterotrofija) se može javiti u dva oblika:

- organotrofija: direktno unošenje rastvorljivih molekula organskih sastojaka apsorpcijom preko ćelijske površine, i
- fagotrofija: ingestijom čitavih čestica organske materije.

Prelaz sa autotrofije na heterotrofiju se javlja duž nutritivnog gradijenta (Tabela 3), u rasponu od fakultativne organotrofije i fagotrofija (gde zahtev za spoljašnja organska jedinjenja može biti minimalan) do obavezne (gde je zavisnost potpuna). Ova fakultativna stanja uključuju auksotrofiju, fotoorganotrofiju i miksotrofiju.

Pojava heterotrofije se obično javlja kao odgovor na dve različite ekološke situacije, u uslovima visoke koncentracije organskih materija i u sredini gde su ograničavajući uslovi za odvijanje procesa fotosinteze.

Table 1 Prelaz sa autotrofije na heterotrofiju kod flagelatnih algi (vertikalne strelice ističu prelaz od fakultativne do obavezne heterotrofije)

Tip ishrane	Karakteristike
Autotrofija	Sinteza svih potrebnih organskih jedinjenja iz neorganskih izvora – alge koriste svetlosnu energiju (fototrofija) za proces.
Heterotrofija	Zahtevi za spoljašnjim izvorom organskih jedinjenja - bilo kao specifični metaboliti, bilo kao opšti izvor ugljenika
Organotrofija	Unos rastvorljivih organskih molekula preko ćelijske površine
Auksotrofija	Metabolička potreba za specifičnim spoljašnjim metabolitima (vitamini, faktori rasta)
Foto-organotrofija	Fakultativni organotrofi koji mogu da dobiju ugljenik iz CO ₂ ili iz rastvorljivih organskih jedinjenja a koriste svetlosnu energiju

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

Hemo-organotorfija	Fakultativni ili obligativni organotrofi dobijaju ugljenik i energiju iz organskih jedinjenja
Fagotrofija	Unošenje čestica organske materije fagocitozom
↓	
Miksotrofija	Fakultativni fagotrofi, sposobni za fotosintezu i fagotrofiju
Fagotrofija	Obligatni fagotrofi -ishrana uz učešće hranljivih vakuola za unos čestica

Literatura:

1. Van den Hoek i sar., 1995)
2. Simeunović i sar. (2013)
3. Fischer et al., 1999)
4. Van den Hoek i sar. 1995)
5. Lee, 1997).
6. Vehr i Sheath, 2003)
7. Duarte i sar., 1990).
8. Robarts i Zohari (1984)
9. Sterenson i sar., 1996).
10. Vadebonceur i sar. (2003)
11. (Swift, 1980).
12. (Fischer et al., 1999).
13. (Kaneko et al., 1996)
14. (Chesnick et al., 1996;
15. Laflamme i Lee, 2003)
16. (Reith, 1999).
17. (Duarte i sar., 1990)
18. (Komarek, 1991)

4. Biodiverzitet i aktivnost algi u slatkovodnim ekosistemima

19. (Gorham i sar., 1964;

20. Doers i Parker, 1988;

21. Zirbel i sar., 2000)

5. BAKTERIJE KAO GLAVNI HETEROTROFNI MIKROORGANIZMI U SLATKOVODNOM EKOSISTEMU

Bakterije su glavni prokarioti u slatkovodnim ekosistemima, a većina ima maksimum linearne dimenzije u opsegu pikoplanktona (0,2–2 μm), mada neke slatkovodne bakterije spadaju i u femtoplankton (<0,2 μm) i nanoplankton (2–20 μm). Ovi organizmi se mogu lako uočiti u vodi svetlosnom mikroskopijom (tamno polje, fazni kontrast), ali i transmisijom i skenirajućom mikroskopijom.

Bakterije u slatkovodnim ekosistemima pokazuju veliku morfološku, fiziološku i genetičku varijabilnost. One se mogu podeliti na različite grupe, na osnovu morfologije (koke, bacili, izvijene i filamentozne bakterije), odnosa prema kiseoniku (aerobne i anaerobne), pokretljivosti (nepokretne, pokretne flagelama, aksijalnim filamentima, klizeći), bojenja po Gramu (Gram pozitivne i Gram negativne), itd. U ovim sredinama dominiraju Gram negativne bakterije, dok je broj predstavnika Gram pozitivnih bakterija manji, sa nekim izuzecima (npr. *Bacillus*). Većina bakterija živi slobodno, ima i onih koje su simbionti, a ima i parazita (npr. *Bdellovibrio*).

Bakterije su prisutne u slatkim vodama i formiraju velike pelagične i bentosne populacije u različitim staništima uključujući i blato, močvare, sumporne izvore, jezera i reke. Iako su neke bakterije, kao npr. *Escherichia coli*, prisutne kao slučajni kontaminanti, većina slatkovodnih bakterija pokazuje veliko fiziološko prilagođavanje svom okruženju. Obligatni anaerobi su, na primer, ograničeni na anoksične sedimente i hipolimnion. U nekim slučajevima, organizmi (npr. *Bacillus pituitans*) imaju vrlo ograničena staništa, dok drugi kao *Pseudomonas aeruginosa* su veoma rašireni.

Raznolikost mikrosredine unutar pojedinih staništa dovodi do niza prilagođavanja pelagičnih i bentosnih organizama. U jezerskom okruženju, na primer, različite vrste pelagičnih bakterija se postavljaju u vodenom stubu u odnosu na lokalne uslove intenziteta svetlosti, nivoa kiseonika i koncentracije hranljivih sastojaka. Bakterije takođe zauzimaju određene niše u jezeru ili rečnom okruženju, povezano sa određenim pelagičnim i bentosnim algama, makrofitama i sedimentu. Bakterijski biofilmovi čine važne mikrobne zajednice u jezerima (na prelazu vazduh - voda na površina jezera, u sedimentu) i u potocima (dodir vazduh – voda, kamenje i površina vodenih biljaka). Fiziologija pričvršćenih bakterija, tj. bakterija u biofilmu, je veoma različita od planktonskih, pelagičnih formi (npr. karakteristike rasta, otpornost na antimikrobna jedinjenja i sl.) i neposredna blizina drugih bakterijskih ćelija unutar biofilma je važna za prenos gena među ćelijama.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Brojnost bakterija u slatkoj vodi jako varira i to od 10^2 do 10^8 /mL. Ono što važi za bakterije je da su:

- taksonomski vrlo raznolike i imaju izražen fenotipski, genotipski i molekularni biodiverzitet,
- glavni heterotrofni mikroorganizmi u različitim vodenim sistemima,
- vrlo raznolike u pogledu metaboličkih aktivnosti i imaju ključne uloge u geohemijskim ciklusima,
- posebno važne u anaerobnom okruženju, gde su alge i druga slobodno živeća biota manje metabolički aktivna,
- ključna komponenta mikrobnih lanaca ishrane, u okviru kojih su posebno važne u recikliranju sekretornih proizvoda algi,
- sposobne da nadvladaju alge za nitrata i fosfate pod uslovima ograničenih hranljivih sastojaka,
- sposobne da formiraju ključne asocijacije sa drugim biotama, naročito algama i
- primarni su kolonizatori mnogih bentosnih staništa, formirajući trajne bakterijske biofilme na mnogim površinama.

Bakterije su najveći oportunisti od svih slobodnoživećih slatkovodnih organizama i krajnji su r-stratezi. One prevazilaze gotovo sve grupe algi u pogledu male veličine i kratkog trajanja ćelijskog ciklusa i u smislu visokih stopa rasta i apsorpcije hranljivih materija. Unutar vodenog stuba, bakterije se razlikuju od pelagičnih algi jer pokazuju još jednu adaptaciju ka r-izboru - većina bakterija unutar populacije je metabolički neaktivna i čeka povoljne uslove sredine da započne rast i deobe.

U vodenim ekosistemima potrebno je identifikovati određene fiziološke grupe bakterija, ali i vrste koje su prisutne. Jedan od načina je izolacija, kultivacija i biohemijska karakterizacija bakterija. Ipak, samo 1% bakterija koje egzistiraju u slatkoj vodi mogu biti kultivisane. Ako su bakterije kultivabilne, mogu se koristiti različiti sistemi (Biolog sistem, API, Vitek i sl.) koji omogućavaju ispitivanje velikog broja biohemijskih karakteristika. Daleko pouzdanija je identifikacija koja podrazumeva molekularne metode, tj. identifikaciju na osnovu sekvence gena za 16S rRNK. Moguća je i primena obeleženih proba za određene grupe ili vrste bakterija i hibridizacija DNK na mesu, tj. *in situ* (FISH metoda). Danas se najčešće koriste metagenomske analize, koje omogućavaju karakterizaciju celokupne mikrobne zajednice.

5.1. Genetičke interakcije

Genetička raznolikost uključuje varijacije u genetičkom sastavu i ekspresiji gena i ključni je faktor za:

- raznolikost bakterijskih metaboličkih aktivnosti u slatkovodnom okruženju i
- ekološke adaptacije bakterija na određena staništa.

Ekspresija pojedinačnih gena je regulisana spoljnim (npr. specifična dostupnost hrane) i unutrašnjim faktorima (npr. stadijum ćelijskog ciklusa). Glavne ekološke promene mogu uzrokovati ekspresiju većeg broja gena, koji su kod prokariota smešteni na operonima, tj. genima koji kodiraju više proteina, a svi se transkribuju zajedno i ekspimiraju se preko jedne iRNK (policistronska iRNK). Takođe, kod bakterija postoji hromozomska DNK (jedinstven cirkularni molekul), koja je smeštena u delu ćelije koji se označava kao nukleoid. Pored toga, postoji i ekstrahromozomska DNK, a to su prvenstveno plazmidi, ali i fagi, transpozoni i insercione sekvence. Ekstrahromozomska DNK ne kodira gene koji su esencijalni za život bakterija u optimalnim uslovima i replicira se nezavisno od hromozoma. Ipak, plazmidi kodiraju enzime uključene u razgradnju teško razgradivih supstanci, obezbeđuju rezistenciju na razne hemijske agense, uključujući teške metale itd. Zbog toga prisustvo plazmida može bakterijama u određenim okolnostima obezbediti kompetitivnu prednost. Npr. *E. coli* ima sistem za popravke mutacija koje nastaju delovanjem UV svetla, koji uključuje i RecA protein (koji učestvuje u rekombinaciji). *P. aeruginosa* nema ovaj sistem, ali ima RecA protein, dok se ostali geni mogu nalaziti na plazmidima.

Postoji tri moguća načina promene genetičkog materijala bakterija **rekombinacija, mutacija i transpozicija**. Rekombinacija podrazumeva zamenu regiona hromozomske DNK homolognom DNK unesenom u bakterijsku ćeliju i predstavlja važan aspekt popravke DNK. Direktno umetanje DNK u bakterijski hromozom može prouzrokovati gubitak ili promenu postojeće funkcije gena (mutacija) ili ekspresiju gena u novom regionu hromozoma (transpozicija). Promena genetičkog materijala, tj. hromozoma imaju dugoročni značaj, jer se izmenjeni hromozom replicira i prelazi u ćerke ćelije.

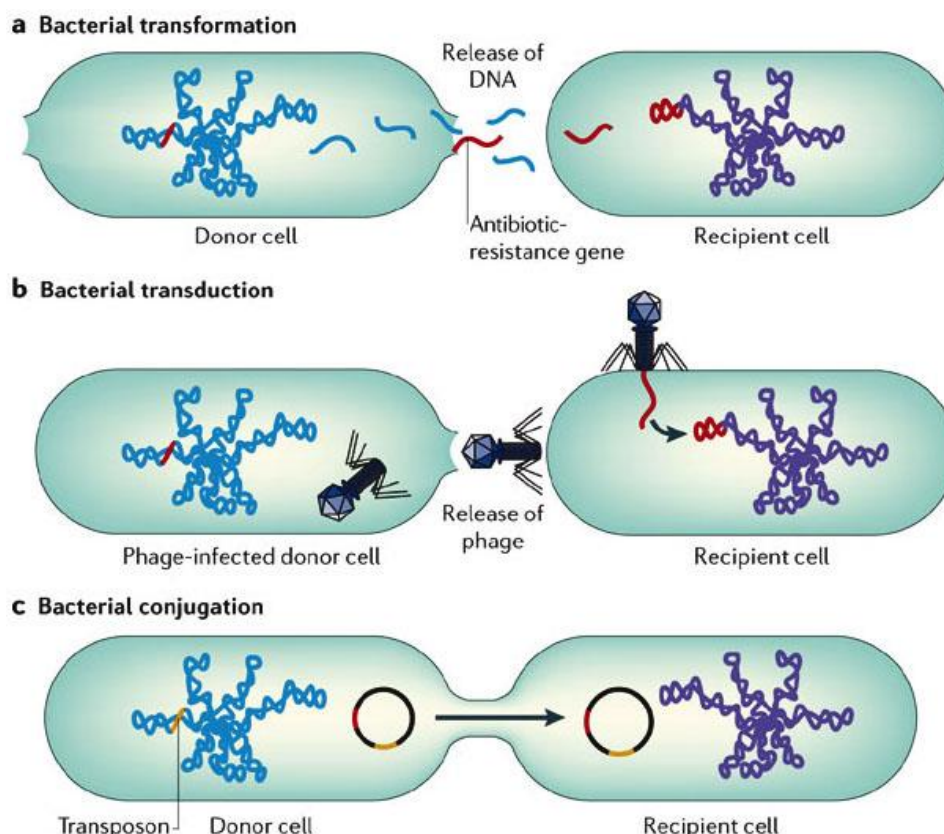
Prenos i širenje gena (uključujući prirodne mutacije) unutar vodenih bakterijskih populacija je važan za brojne ključne procese koji utiču na sposobnost bakterija da se prilagode promenama u spoljašnjoj sredini.

Prenos gena ubrzava proces evolucije bakterija, posebno kada se kod nekih bakterija akumuliraju mutacije koje obezbeđuju kompetitivnu prednost. Na ovaj način mutacije mogu da koriste celoj bakterijskoj zajednici, omogućavajući ovim organizmima da se brže prilagode novim sredinama. Prenos gena daje pomoćne genetičke elemente i ima glavnu ulogu u genetičkoj raznolikosti. Ovi genetički elementi odgovorni su za fenotipske

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

karakteristike kao što su rezistencija na antibiotike, teške metale, razgradnja složenih organskih jedinjenja i sl, koja mogu dati kratkoročnu ekološku prednost.

Razmena genetičkog materijala između bakterija (horizontalni transfer gena) podrazumeva **transformaciju, konjugaciju i transdukciju** (slika 1).



Slika 1. Horizontalni transfer genetičkog materijala: transformacija, transdukcija i konjugacija (Izvor:)

Transformacija je usvajanje ekstracelularne (egzogene) DNK iz spoljašnje sredine. Ekstracelularna DNK je prisutna u slatkovodnoj sredini u koncentraciji 1-200 ng/mL, a u morskoj vodi oko 30 ng/mL. Ova DNK je istovremeno i deo DOC, a poreklom je iz liziranih/uginulih ćelija. Da bi se transformacija dogodila, pored ekstracelularne DNK, neophodno je da bakterija koja preuzima DNK bude kompetentna. Kod Gram negativnih bakterija kompetencija se može razviti npr. u uslovima gladovanja, ili u bliskom kontaktu ćelija u biofilmu kod Gram negativnih bakterija. Kompetencija Gram pozitivnih se javlja kada se luče polipeptidi, a kada njihova koncentracija bude dovoljno visoka, bakterija postaje kompetentna. dsDNK se prvo vezuje za receptore, elektrostatski, a zatim i kovalentno. Nukleaza razgrađuje jedan lanac dsDNK i preuzima se ssDNA, koja zatim može da se ugradi u hromozom rekombinacijom, posredstvom RecA proteina. Transformacija može biti intraspecijska (u okviru jedne vrste) ili interspecijska (među različitim vrstama). Ekološki potencijal transformacije je nizak, posebno interspecijske, jer: (1) samo mali broj bakterija je prirodno kompetentan, (2) da bi se DNK ugradila u

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

hromozom mora da postoji komplementarnost DNK donora i recipijenta i (3) deo DNK koji se usvaja je ograničene, obično veoma male veličine.

Transdukcija je prenošenje DNK jedne bakterije preko bakteriofaga u drugu bakteriju. Transdukcija može biti generalizovana (prenosi se bilo koji deo DNK) ili specijalizovana (vrše je samo umereni fagi koji se nepravilno isecaju iz genoma, pa uvek prenose neki određeni deo genoma u blizini kojeg su se ugradili). Ekološki značaj transdukcije je takođe ograničen, jer fagi inficiraju samo određene sojeve jedne vrste, pa tako prenose gene samo u okviru bliskih sojeva, a veličina DNK koja se prenosi takođe je ograničena.

Konjugacija je prenos DNK, najčešće plazmidne, u bliskom kontaktu dve ćelije. Kontakt se ostvaruje preko pila, koji su kodirani genima na plazmidima, koji se označavaju i kao konjugativni plazmidi (F plazmidi). Ovi plazmidi omogućavaju sopstveni transfer sa jedne bakterije na drugu, ali i transfer drugih plazmida. Kada se plazmid ugradi u hromozom, onda se može ovim procesom preneti i deo hromozoma. Neki plazmidi mogu da se prenose i među bakterijama koje filogenetski nisu bliske, dok se drugi prenose samo između srodnih bakterija.

Pretpostavlja se da je konjugacija predominantna u biofilmu, a u planktonskoj formi transdukcija i transformacija.

5.2. Metabolički diverzitet

Varijacije u metaboličkim aktivnostima bakterija su važan aspekt njihove raznolikosti u okviru slatkovodnih sredina, i odražavaju njihove različite uloge i pozicije unutar ekosistema. Četiri ključne karakteristike definišu metabolički status slatkovodnih bakterija:

Izvor energije. Izvor energije je ili svetlost (fototrofi koji vrše fotosintezu) ili hemijska energija (hemotrofi). Hemotrofi koriste energiju dobijenu iz reakcija koje oslobađaju energiju (egzergonične) oksidacijom organske materije.

Izvor elektrona za rast (davalac elektrona). Elektroni se dobijaju ili iz organskih (organotrofi), ili iz neorganskih jedinjenja (litotrofi) kao što su sulfid, vodonik i voda.

Izvor ugljenika, potreban za sintezu bakterijske biomase. Dobija se ili iz CO₂ tokom fotosinteze (autotrofi), ili iz složenih organskih jedinjenja (heterotrofi).

Krajnji akceptor elektrona. Krajnji akceptor elektrona u procesu disanja uključuje kiseonik (aerobno disanje) ili druge molekule (npr. sulfat, nitrat) u anaerobnoj respiraciji.

Glavna uloga bakterija u slatkovodnim ekosistemima je razgradnja organske biomase i reciklaža različitih ključnih elemenata (azot, fosfor, sumpor) koji su prisutni u raznim

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

organskim jedinjenjima (slika 2). U skladu sa ovim, većina slatkovodnih bakterija je heterotrofna i one žive od prisutnih organskih jedinjenja ugljenika u vodenoj sredini ili u sedimentu. Koristeći gornju terminologiju, tipična bakterija u vodenoj masi je hemoorganoheterotrof, dok je tipična ćelija algi i cijanobakterija fotolitoautotrof.

Klasifikacija slatkovodnih bakterija u odnosu na njihove metaboličke aktivnosti (tabela 1) može se izvršiti na nekoliko ekološki relevantnih grupa, od kojih se pojedine javljaju u aerobnim sredinama (hemosintetski autotrofi, većina nefotosintetičkih heterotrofa), dok se druge javljaju u anaerobnom hipolimnionu, sedimentu i drugim anoksičnim sredinama (npr. fotosintetski autotrofi, fotosintetički heterotrofi, fermentacione bakterije).

Tabela 21 Klasifikacija glavnih grupa mikroorganizama prema metaboličkim karakteristikama; aerobi su označeni sivom bojom; Prisutne su u svim delovima ekosistema u različitoj brojnosti, ali npr. anaerobi dominiraju na dnu i dr. anaerobnim mikrosredinama u lotičkim i lentičkim sistemima

Tip metabolizma	Izvor energije/donor e-	Akceptor e-	Izvor ugljenika	Krajnji produkt (ne računajući ugljenik)	Organizam
Fotosintetički autotrofi	Svetlost, H ₂ S, S, S ₂ O ₃ ²⁻ , H ₂	H ₂ O	CO ₂	S, SO ₄ ²⁻ , H ₂ O	Zelene i purpurne sumporne bakterije
Hemosintetski autotrofi	NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻ , H ₂ S	O ₂	CO ₂	NO ₃ ⁻	Nitrificirajuće bakterije
	H ₂ S	O ₂	CO ₂	S, H ₂ O, SO ₄ ²⁻	Bezbojne sumporne bakterije
	H ₂	CO ₂	CO ₂	CH ₄	Metanogeni
Fotosintetski heterotrofi	Svetlo, organski supstrat (šećeri, alkoholi, kiseline)	H ₂ O	Organski	H ₂ O	Ne-šumporne purpurne bakterije
Nefotosintetski heterotrofi (primer)					
Vodne bakterije	Organske supstance	O₂	Organski	Organske kiseline, alkoholi,	Aerobne heterotrofne bakterije

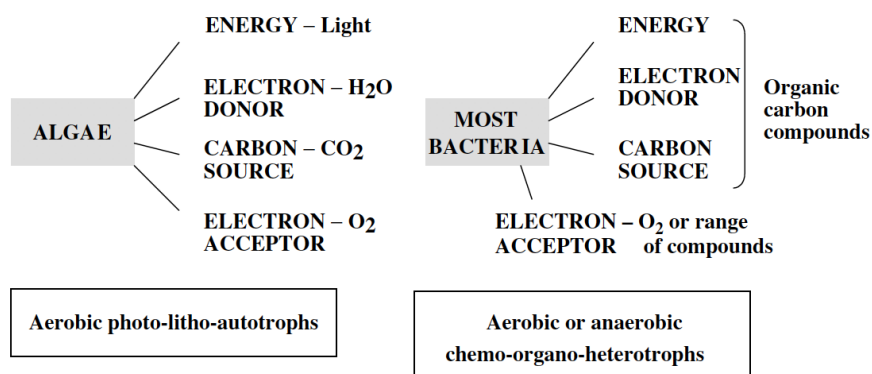
5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

CO ₂ itd.					
Denitrifikacija	Organske supstance	NO ₃ ⁻	Organski supstrat	N ₂ , NO ₂ , NH ₃	Denitrificirajuće bakterije
Redukcija sulfata	Primarni organski supstrati	SO ₃ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , (S ₄ O ₆) ²⁻ , NO ₃ ⁻	Organske supstance	H ₂ S(S ₂ O ₃ ²⁻), N ₂	Sulfat redukujuće bakterije
Redukcija Mn i Fe	Organske supstance	Fe ³⁺ , Mn ⁴⁺	Organske supstance	Fe ²⁺ , Mn ²⁺ , CO ₂ , N ₂ , NH ₃	Fakultativni anaerobi
Fermentacija	Organske supstance	Organske supstance	Organske supstance	CO ₂ , H ₂ , organske kiseline, CH ₄ , H ₂ S, NH ₃	Fermentujuće bakterije

CO₂ mogu da usvajaju alge, cijanobakterije, ali i druge bakterije, tačnije tri tipa:

- Fotosintetske bakterije (fotoautotrofi). Koriste svetlosnu energiju koja posreduje u usvajanju CO₂.
- Hemosintetske bakterije (hemoautotrofi). Ovi organizmi se obično javljaju u vodenoj biomasi na graničnom sloju između aerobne i anaerobne zone, koristeći redukovana neorganska jedinjenja kao izvor energije. Redukovana jedinjenja su u velikoj meri dobijena razgradnjom organske materije u anaerobnom hipolimnionu. Posebno je hemosintetska fiksacija CO₂ visoka u uslovima nagle promene gradijenta redoks potencijala koji se javlja na vrhu anaerobne zone, ali je u ostalim delovima vodenog stuba niska. Zahtev za anaerobnim hipolimnionom znači da hemosinteza ima tendenciju da bude izraženija u eutrofnim nego u oligotrofnim jezerima i u stabilnim dugoročnim redoks gradijentima koji se razvijaju u meromiktičkim jezerima.
- Heterotrofne bakterije. Fiksacija CO₂ koja nije fotosintetska vrši se od strane heterotrofnih bakterija. Ova tamna fiksacija CO₂ je koristan parametar heterotrofne produktivnosti.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



Slika 2. Poređenje metaboličkih osobina slatkovodnih bakterija; zbog jednostavnosti, alge su predstavljene kao autotrofi, bakterije heterotrofi

Razgradnja organske materije podrazumeva oksido-redukcione reakcije, tj. prenos elektrona sa organskog supstrata (oksidacija) na akceptora elektrona (redukcija):

(Supstrat + e⁻) + akceptor = supstrat + (akceptor + e⁻) + slobodna energija

Bakterije deluju kao katalizatori u ovim reakcijama, koje se mogu odvijati samo u uslovima koji su termodinamički povoljni. Energija koja se oslobađa ovim procesom može se kvantifikovati kao slobodna energija po molu supstrata (ΔG_0^{\prime}). Samo deo ove energije (1-50%) postaje direktno dostupan bakterijskoj ćeliji, a koristi se za kataboličke i anaboličke (sintetičke) procese, koji promovišu produktivnost bakterija i povećanje populacije. Slobodna energija koja se oslobađa pri oksidaciji varira u zavisnosti od supstrata i akceptora elektrona, koji zavise od uslova okoline - uključujući prisustvo kiseonika (aerobno okruženje) i odsustvo (anaerobno okruženje).

5.2.1. Aerobna razgradnja

Aerobni uslovi se mogu definisati kao sredine gde je kiseonik slobodno dostupan i koristi se u oksidaciji organskih (i nekih neorganskih) supstrata. Aerobna sredina sadrži obligatno aerobne mikroorganizme (koji su ograničeni na kiseonik kao sekundarni akceptor elektrona) i fakultativne anaerobe (koji su u stanju da koriste druge sekundarne akceptore pored kiseonika). U jezeru se koncentracija rastvorenog kiseonika (DO) kreće se od prezasićenja (površina jezera) do vrlo niskih nivoa u hipolimnionu i sedimentu. Ovaj opseg koncentracije kiseonika korelira sa nizom oksidacionih sposobnosti ili oksido/redukcionog potencijala (redoks potencijal). Redoks potencijal (Eh) može se meriti standardnom elektrodom i obično se izražava u milivoltima (mV). U dobro oksigenisanim sredinama redoks potencijal je obično veći od +360mV, a pada na -500 mV u visokoredukujućim uslovima.

Zbog veze između slobodne energije oslobođene tokom oksidacije supstrata i rasta bakterija, bakterije koje su uključene u visokoenergetske reakcije imaju potencijal za veću

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

stopu rasta i mogu nadmašiti one koje učestvuju u reakcijama sa niskoenergetskim bilansom. U aerobnom okruženju, kiseonik koji generiše najviše slobodne energije je glavni akceptor elektrona i bakterije koje ga koriste za oksidaciju supstrata će prevladati. Površina vode reka i jezera su tako naseljene obligatnim aerobima koji koriste složena organska jedinjenja kao izvor energije, ugljenika i elektrona.

Organska jedinjenja koja razgrađuju bakterije u jezerima uključuju materijal iz mrtvih biota (naročito algi koje se talože u epilimnionu) i ekstracelularne materije (rastvoreni organski ugljenik, DOC). U oligotrofnim jezerima, oba izvora ugljenika su minimalna, ograničavajući aktivnost aerobnih heterotrofa i uklanjanje kiseonika, tako da ceo vodeni stub ostaje aeroban. U eutrofnim jezerima visok nivo supstrata dovodi do mnogo većeg utroška kiseonika, što rezultuje anaerobnim uslovima. Ovo je posebno akutno u hipolimnionu, tamo gde je najveća akumulacija mrtve organske materije i nema fotosintetskog stvaranja kiseonika od strane algi i cijanobakterija. U potocima i rekama, čitav vodeni stub je tipično dobro oksigenisan, sa velikom aerobnom razgradnjom od strane bakterija u sedimentu.

Iako je većina bakterija u aerobnim sredinama uključena u oksidaciju organske materije, neke su sposobne da koriste neorganska jedinjenja. Takve hemolitotrofne bakterije su aktivne u mnogim aerobnim uslovima i odgovorne su za oksidaciju niza neorganskih supstrata, uključujući metan, vodonik-sulfid, amonijum-jon, nitrit-jon i jone gvožđa (tabela 2).

Tabela 22 Oksidacija redukovanih neorganskih jedinjenja u aerobnim uslovima od strane hemolitotrofa

Supstrat	Reakcija	Oslobođena slobodna energija (kJ/mol)
Metan	$\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 \longrightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	-810
	$\text{HS}^- + 2\text{O}_2 \longrightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$	
Vodonik sulfid	$2\text{NH}_4^+ + 3\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{NO}_2 + 4\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	-797
	$2\text{NO}_2^- + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{NO}_3^-$	
Amonijak	$4\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + 4\text{H}^+ \longrightarrow 4\text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}$	-275
Nitriti		-75.8
Fero jon		-4

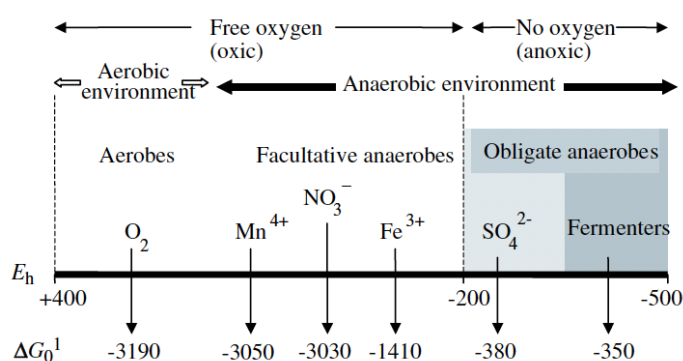
Maksimalni iznos slobodne energije ($\Delta G_0'$) oslobođen po molu reaktanata kreće se od -4 do -810 kJ u ovim reakcijama i iznosi znatno manje od vrednosti od -3190 kJ/mol nastale oksidacijom biomase. Mnoge bakterije uključene u ove reakcije su prisutne u kiseoničnoj mikrozonu dodira mulja i vode, gde supstrat difunduje iz donjih slojeva sedimenata.

5.2.2. Anaerobna razgradnja

Anaerobne sredine su one u kojima je koncentracija kiseonika izuzetno niska da bi se mogao koristiti kao akceptor elektrona. Ove sredine mogu biti podeljene u dve glavne grupe - sredine sa niskim kiseonikom, i anoksična okruženja, gde je kiseonik potpuno odsutan.

Sredine sa niskim sadržajem kiseonika. Iako je kiseonik elektronski akceptor u potpuno oksigenisanim sredinama, uklanjanje DO metaboličkim procesima može smanjiti dostupnost do te mere da se koriste drugi akceptori elektrona (Mn^{4+} , NO_3^- , Fe^{3+} i SO_4^{2-}).

Slobodna energija oksidacije po molekulu organske materije preko svakog od ovih akceptora znatno variraju, od -380 do -3050 kJ/mol (slika 3). Kako oksidacija organske materije prati sekvencu u kojoj akceptori koji generišu najviše energije imaju prednost, svaki od ovih akceptora će se koristiti dok se jedan akceptor ne iskoristi i ne pređe se na sledeći. Ovaj postupak se nastavlja dok se ne uklone svi akceptori elektrona. Ova hemijska sekvencija je paralelna sa ekološkom sukcesijom, u kojoj se čitave zajednice bakterija menjaju sa hemijskim okruženjem. Bakterije koje koriste Mn^{4+} , NO_3^- , Fe^{3+} su fakultativni anaerobi, sposoban da koriste ili kiseonik ili neorganske akceptore elektrona, u zavisnosti od uslova.



Slika 3. Sekvenca akceptora elektrona od aerobnih do anaerobnih uslova prati sekvencu slobodne energije oslobođene iz jednog mola organske materije tokom oksidacije ili fermentacije

Anoksične sredine. Ove sredine, gde je kiseonik potpuno odsutan, sadrže populacije obligatnih anaerobnih bakterija. Reakcije oksidacije/redukcije pomoću neorganskih akceptora elektrona su strogo ograničene, mada su sulfat redukujuće bakterije sposobne da koriste SO_4^{2-} kada je kiseonik potpuno odsutan ($E_h < 200$ mV). Većina razgradnje organske materije vrši se procesom fermentacije. U anaerobnim uslovima organska materija se metaboliše od strane raznih heterotrofnih bakterija, koje dobijaju energiju fosforilacijom supstrata. U ovoj situaciji, gde kiseonik više ne deluje kao univerzalni akceptor vodonika, situacija postaje složena, sa nizom organskih i neorganskih jedinjenja

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

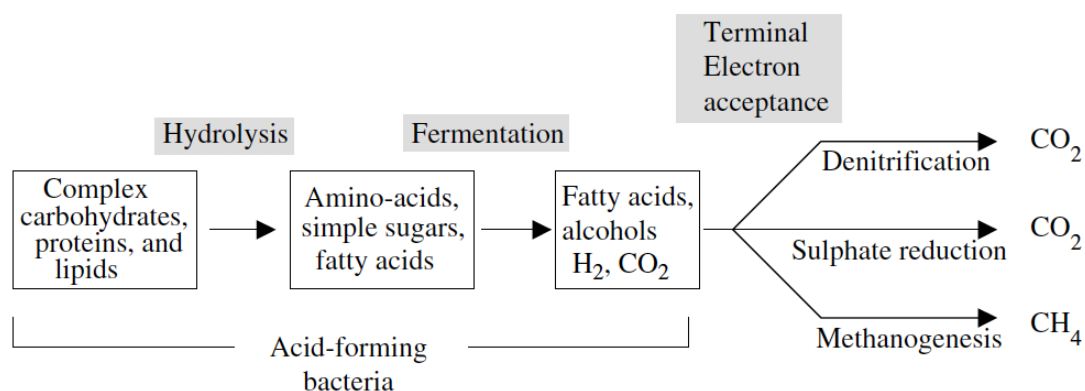
koja preuzimaju ovu ulogu. U nekim slučajevima, isto jedinjenje može delovati kao akceptor vodonika ili donor, u zavisnosti od uslova sredine.

Velike količine organskog detritusa se razgrađuju pod anaerobnim uslovima koji se javljaju u hipolimnionu i sedimentu eutrofnih jezera, i u sedimentima bara, reka i u postrojenjima za obradu otpadnih voda (septičke jame, anaerobne lagune).

Poređenje sa procesom oksidacije (korišćenjem kiseonika kao akceptora elektrona) pokazuje da bakterije u oksigenisanim delovima vodenog stuba dobijaju mnogo više energije iz aerobne razgradnje organske materije u poređenju sa onima koji vrše anaerobne fermentacije u sedimentu.

Proces fermentacije se odvija u dve različite faze (slika 4):

1. **Početna hidroliza i fermentacija.** Hidrolitičku i fermentativnu konverziju proteina, ugljenih hidrata i masti vrši heterogena grupa fakultativnih i obligatno anaerobnih bakterija. Ove bakterije generišu velike količine organskih kiselina i kolektivno su označene kao acidogeni mikroorganizmi. Degradativna aktivnost ovih organizama rezultuje formiranjem CO_2 i raznih krajnjih proizvoda, uključujući H_2 , H_2S , sirćetnu, proprionsku, mlečnu i masne kiseline, etanol i amine. Ova jedinjenja bi se akumulirala u anaerobnoj sredini ako se ne bi metabolisala na razne načine.
2. **Uklanjanje proizvoda raspadanja.** Uklanjanje oksidirajućih srednjih i krajnjih proizvoda vrši se obligatnim anaerobima koji su u mogućnosti da koriste čitav niz akceptora vodonika kao što su sulfati, nitrati i CO_2 .

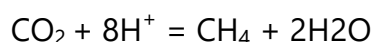


Slika 4. Stadijumi anaerobne razgradnje kompleksnih organskih molekula (Wetzel, 1983)

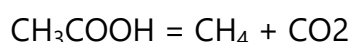
Denitrifikujuće i sulfat-redukujuće bakterije koriste nitrata i sulfata kao krajnje akceptore elektrona. Aktivnost ovih organizama je ograničena dostupnim sulfatom i nitratom, koji difunduju od epilimniona u hipolimnion u eutrofnim jezerima.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Bakterije koje proizvode metan. One su aktivne pod strogo anaerobnim uslovima i uključuju bakterije sa štapićastim oblikom (*Metanobacterium*, *Metanobacillus*) i kokoidnim (metanokok, metanosarcina). Metan se generiše u jednom od dva procesa. U prvom slučaju bakterije koriste CO₂ kao akceptor vodonika izvedenog iz organske kiseline:



U drugom se sirćetna kiselina direktno prevodi u metan i CO₂:



Metan koji nastaje redukcijom CO₂ difunduje u aerobna područja gde se lako oksiduje. Ispod gornjih 1-2 mm, duboki sedimenti stratifikovanih jezera su trajno anoksični, a proizvodnja metana je glavna delatnost kao ključni terminalni proces u anaerobnoj razgradnji organske materije. Fermentacija postaje dominantni proces razgradnje u takvim uslovima jer jedina alternativa, redukcija sulfata, je ograničena u većini slatkovodnih jezera sa malo dostupnog sulfata. U severnoameričkim jezerima više od polovine ukupnog iznosa ugljenika dospeva u sediment i pretvara se u CH₄, sa H₂ / CO₂ i acetatom kao supstratom.

Fotosintetske bakterije. H₂S se oslobađa iz raspadajuće biomase kao deo procesa fermentacije. Naknadna oksidacija redukovanih supstrata fotosintetskim bakterijama podrazumeva uklanjanje vodonika i elektroni za usvajanje CO₂ u procesu fotofosforilacije. Usvajanje CO₂ od strane ovih organizama kao deo asimilatorne redukcije sulfata je zbog toga važan za formiranje jedinjenja ugljenika i uklanjanje viška vodonika i elektrona iz redukovanih supstrata.

Ostali krajnji proizvodi anaerobne fermentacije, uključujući H₂, CH₄, H₂S i N₂ takođe se mogu metabolisati od strane fotosintetskih bakterija, koje su u stanju da istovremeno koriste vodonik kao akceptor elektrona sa asimilatornom redukcijom sulfata. Za razliku od druge dve glavne grupe anaerobnih bakterije uključenih u terminalnu degradaciju biomase, fotosintetske bakterije nalaze se na vrhu anaerobnog hipolimniona.

5.2.3. Prilagođavanje oligotrofnoj sredini

Mnogi mikroorganizmi imaju adaptacije da se prilagode nepovoljnim sredinama, koje podrazumevaju malo hranljivih sastojaka u vodi (tabela 3)

Tabela 23 Odgovor akvatičnih bakterija na gladovanje

Karakteristike ćelija	Odgovor na gladovanje	Biološka implikacija
Genetičke promene		

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Karakteristike ćelija	Odgovor na gladovanje	Biološka implikacija
Formiranje transkripcionog faktora specifičnog za gladovanje (RpoS)	Aktivacija rpoS gena dovodi do stvaranja RpoS	Stimulacija + gena koje kontroliše RpoS
Stimulacija ekspresije gena koje kontroliše RpoS	Aktivacija 30-50 gena važnih u gladovanju	Geni koji su odgovorni za fenotip gladovanja
Biohemijski sastav		
Površinske membrane	Smanjenje lipidnog sadržaja u membranama	Smanjenje ćelije
	Promena sastava masnih kiselina i fluidnosti	Mogućnost usvajanja raznih supstrata iz sredine
ATP sastav (energetsko stanje)	Redukcija adenilatne energije od 1 do 0.5-0.75	Ćelijsko održavanje/preživljavanje, ali ne i rast
Rezervne materije	Usvajanje specifičnih rezervnih jedinjenja (glikogen, polibetahidroksialkanoati i sl)	Integracija dostupnog ugljenika tokom vremena
Ne-rezervni molekuli	Gubitak slobodnih amino-kiselina, degradacija proteina i RNK	Interni metaboliti i strukturni molekuli postaju supstrat
Ćelijska veličina i oblik	Smanjenje veličine; izdužene bakterije postaju sferične	Raste odnos površine i zapremine, povećava se mogućnost usvajanja nutrijenata
Bakterijska populacija		
Ukupna bakterijska populacija	U većini slučajeva javlja se inicijalni rast, a zatim opadanje	Redukcija dostupnosti hrane za bakterije
Vijabilne bakterije	Opadanje brojnosti vijabilnih bakterija sa preživljavanjem nekoliko dominantnih ćelija	Dugoročno preživljavanje omogućava korišćenje nutrijenata u budućnosti

Gram pozitivne bakterije imaju tendenciju da formiraju dormantne spore, dok Gram negativne bakterije imaju molekularne i fiziološke mehanizme koji im omogućavaju da perzistiraju sa niskom metaboličkom aktivnošću. One perzistiraju dok se ne poveća

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

koncentracija hranljivih materija, a kada se poveća iskoriste povoljne uslove za razmnožavanje, što rezultuje rastom populacije. Sposobnost bakterija da žive u uslovima akutnog nedostatka hranljivih materija „izgladnjivanje-preživljavanje“ može se definisati kao proces preživljavanja u odsustvu supstrata koji su izvor energije.

Organske hranljive materije su obično dostupne u slatkoj vodi iz egzogenih izvora ili od algi preko lanaca ishrane. Izvori ugljenika su problem tamo gde je ograničena dostupnost egzogenog ugljenika i tamo gde populacije alge nisu dovoljne da ga nadomeste (nedostatak svetlosti, mineralnih materija i sl). Ovo dovodi do promena u ekspresiji gena koji su uključeni u gladovanje što dalje menja morfologiju i fiziologiju mikroorganizama, a utiče i na celokupnu populaciju bakterija. U gladovanju se inicijalno aktivira *rpoS* gen, a nastaje specifični transkripcioni faktor RpoS (σ^S), koji se vezuje za RNK polimerazu, koja uvodi populaciju u stacionarnu fazu (slika 5). Regulacija ovog faktora određena je preko cAMP i ppGpp sa jedne strane (stimulišu transkripciju) i UDP-glukoze sa druge strane (vrši represiju translacije). Aktivnost RpoS je regulisana i posttranskripciono preko njegove molekulske stabilnosti. Smatra se da se 30-50 proteina indukuje putem RpoS kontrole, uključujući enzime koji su odgovorni za hidrolizu proteina i ugljenih hidrata, sintezu i zaštitu DNK itd. Biohemijske promene uključuju smanjenje površinske membrane (sa promenama u biohemijskom sastavu), smanjuje se koncentracija ATP, upotreba jedinjenja za interno skladištenje, a takođe i konverzija rezervnih molekula, kao i ne-rezervnih molekula za stvaranje energije. Smanjenje površine membrana, uz korišćenje ćelijskog sadržaja za stvaranje energije, rezultuje smanjenjem veličine i dovodi do promena u sferni oblik ćelije (za izdužene bakterije). Mala veličina bakterija u stanju gladovanja je jedna od najočiglednijih karakteristika ovog metaboličkog stanja, a može rezultovati stvaranjem vrlo sitnih „ultramikročelija“. Smanjenje stvaranja biomase i deobe ćelija dovodi do značajnog smanjenja populacije bakterija. Obično se u početku gladovanja u prirodnom ekosistemu javlja kratkotrajno povećanje populacije, a zatim se nakon nekoliko nedelja brojnost izrazito smanjuje, za 99%. Većina ćelija ugine, a druge imaju minimalnu metaboličku aktivnost, ne dele se i sposobne su da brzo odgovore na povećanje koncentracije hranljivih materija.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Osobina	Zelene sumporne	Purpurne sumporne	Purpurne ne-sumporne
Pomoćni pigmenti	Hlorobakterin, Beta-izorenieraten	Likopen, spiriloksantin, okenon	Likopen, spiriloksantin, OH-sferoidenon
Izvor ugljenika	CO ₂ , skoro svi su obligatni autotrofi	CO ₂ , većinom autotrofni, neki su miksotrofi	Miksotrofi (koriste prosta organska jedinjenja)
Donor elektrona	H ₂ S ili S	H ₂ S ili S	H ₂ S
Uslovi sredine	Obligatni anaerobi, tolerišu visoku konc. H ₂ S	Anaerobi, manje tolerantni na H ₂ S, optimalan pH 9.5	Aerobi ili anaerobi, H ₂ S inhibira rast
Deponovanje sumpora	Ekstracelularno	Intracelularno	Ograničen (ekstracelularni) sumpor ili se ne deponuje
Specijalizovane strukture za fotosintezu	U ćelijama postoje „hlorozomi“, u formi vezikula	Specijalizovane interne membrane	Specijalizovane interne membrane
Pokretljivost	Bez flagela, neki imaju gasne vakuole	Neki imaju flagele i gasne vakuole	Neki imaju flagele, nemaju gasne vakuole
Veličina ćelije (dijametar)	0.5-2 µm	2-10 µm	0.5-2 µm

Unutar svake grupe, oblik ćelija se veoma razlikuje između vrsta, uključujući sferne, eliptične, štapičaste i vibrioidne oblike. Razlike u veličini javljaju se između vrsta, a takođe i između glavnih grupa. Ukupna veličina zelenih sumpornih bakterija obično je manja od purpurnih sumpornih bakterija, koje dostižu maksimalni prečnik od 5–10 µm. Lokacija fotosintetskih pigmenata kod zelenih sumpornih bakterija je u „hlorobijum vezikulama“ (hlorozomima) i te strukture se ne nalaze kod druge dve grupe. Gasne vakuole se nalaze kod purpurnih i zelenih sumpornih bakterija, koje formiraju diskretne slojeve u jezerima zahvaljujući ovim strukturama, a ne postoje kod purpurnih ne-sumpornih bakterija.

Postoje i razlike u pokretljivosti (tabela 5). Kulture Thiorhodaceae izložene visokim koncentracijama sulfida i svetlosti prelaze iz pokretne u nepokretne ćelije, koje se spuštaju na dno i stvaraju obilnu sluz. Ekološki značaj aktivnog i pasivnog kretanja je

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

posebno važno u vodenom stubu jezera, gde su oba procesa važna u tačnom pozicioniranju koje se dešava na vrhu hipolimniona. Mnogi od ovih organizama budu ubijeni izlaganjem kiseoniku u prisustvu svetlosti, pa je važno da ne dospeju u oksigenisane delove epilimniona. Migracija purpurnih sumpornih i zelenih sumpornih bakterija je primećena tokom letnje stratifikacije u holomiktičkim jezerima, gde se kreću prema površini zbog proširenja anaerobne visoko-sulfidne zona koja prati porast termokline. Flagelatni oblici su sposobni da migriraju sopstvenom flagelarnom aktivnošću. Studije *in vitro* sugerišu da vertikalni pokreti ovih organizama nastaju kao odgovor na gravitaciju (negativna geotaksija) i kiseonik (negativna aerotaksija).

Gasne vakuole postoje kod fotosintetskih bakterija uključuju zelene sumporne (npr. *Pelodictyon*) i purpurne sumporne bakterije (npr. *Amoebobacter*), koje koriste gasne vakuole za regulaciju dubine, kao i cijanobakterije. Tako purpurne sumporne bakterije prezimljavaju u sedimentu jezera, a u povoljnim uslovima se šire u hipolimnion i na kraju formiraju sloj na vrhu hipolimniona. U jesen ove ćelije ponovo dospevaju u sediment do sledeće sezone, usled nataloženih oksida gvožđa i mangana u ćeliji.

Tabela 25 Pokretljivost i gasne vezikule kod purpurnih sumpornih bakterija

	Rodovi sa gasnim vakuolama	Rodovi bez gasnih vakuola
Rodovi sa pokretnim stadijumom	Lamprocystis	Thiospirillum, Chromatium, Thiocystis
Rodovi sa nepokretnim stadijumom	Rhodotheca Thiodictyum	Thiococcus, Thiocapsa

5.2.4. Ekologija

Metaboličke aktivnosti i zahtevi za fotosintezom bakterija određuju ekološku nišu u vodenom okruženju. Ovi organizmi se često nalazi u usko definisanim mikrosredinama u okviru relativno heterogenih vodenih sistema uključujući bare, močvare, kanale, estuare, reke i jezera. Za razliku od Athiorhodaceae, koje su široko rasprostranjene u vodenoj masi, ali nikada sa visokom gustinom populacije, Thiorhodaceae i Chlorobiaceae su često prisutne u velikoj količini - javljajući se kao crveni ili zelenkasti slojevi na blatu ili formiraju cvetanje u jezerima. Skriveni delovi vode sa cvetanjem fotosintetskih sumpornih bakterija često se nalaze ispod površine visoko produktivna jezera, ograničeni na vrh hipolimniona (odmah ispod termokline) kao diskretni sloj. Unutar ovog sloja, zelene sumporne bakterije su često lokalizovane ispod populacije purpurnih sumpornih bakterija, u skladu sa većom tolerancijom na H₂S od strane Chlorobacteriaceae. Na ovom dodiru površina, fotosintetske bakterije su samo unutar eufotične zone (nivo svetlosti tipično <1 % površinske vrednosti jezera), uz odgovarajuće zalihe supstrata (jedinjenja redukovano sumpora) i pod anaerobnim uslovima. U jezerima koja se potpuno mešaju tokom godišnjeg ciklusa (holomiktička), cvetanje bakterija ograničeno je na letnji period raslojavanja, kada termoklina poraste na svoju najvišu tačku i intenzitet svetlosti je maksimalan. Jezera koji se ne mešaju u potpunosti (meromiktička) imaju termoklinu (povezanu sa anaerobnom visoko sulfidnom zonom) koja može biti stabilna mnogo godina i cvetanje bakterija se javlja tokom dužeg vremenskog perioda. Tako je uočeno dugoročno prisustvo ružičastog bakterijskog sloja 19,5 m ispod površine meromiktičkog jezera Blankvan u Norveškoj, iz kojeg su izolovane purpurne i zelene sumporne bakterije. Iako fotosintetske bakterije imaju tendenciju da se akumuliraju na granici termokline, nisu ograničene na ovaj deo jezera i studije na evropskim jezerima pokazale su da se ove bakterije mogu naći širom hipolimniona do dubine od 35 m. Kao što je prethodno napomenuto, purpurne bakterije koje nisu sumporne razlikuju se od ostalih fotosintetskih bakterija po tome što ne cvetaju u prirodnim uslovima. To čak važi i za uslove koji potpuno odgovaraju njihovom miksotrofnom metabolizmu, kao što je prisustvo organskog otpada. Ovo odsustvo cvetanja može se pripisati prisustvom sulfata, koji je

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

normalno prisutan u visokoj koncentraciji u takvim sredinama i prevodi se sulfat-redukujućim bakterijama u H_2S , direktno inhibirajući rast purpurnih ne-sumpornih bakterija. Zelene i purpurne sumporne bakterija vremenom postanu dominantne pod takvim uslovima i smanjuju koncentraciju sulfida do tačke u kojoj purpurne ne-sumporne bakterije mogu da koegzistiraju.

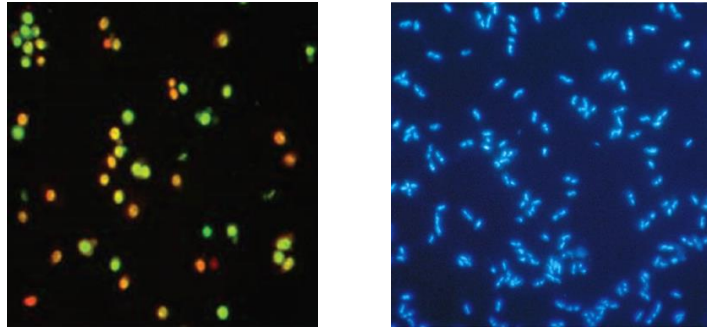
5.3. Bakterijske populacije i produktivnost

Unutar slatkovodnih sredina, osnovna stopa rasta bakterija (produktivnost) je blisko povezana sa povećanjem populacije. U većini slatkovodnih sredina bakterije formiraju najveće populacije svih slobodno živećih biota i samo su virusi brojniji. Populaciona ekologija slatkovodnih bakterija karakteristična je po visokom broju ćelija (planktonske i u formi biofilma) i kapacitetu za brzu stopu reprodukcije. Populacije bakterija imaju tendenciju da pokazuju izrazitu fluktuaciju u odgovoru na faktore životne sredine koji promovišu (npr. neorganske i organskih zagađivača, povećan nivo DOC usled cvetanja fitoplanktona) ili smanjuju produkciju biomase (npr. povećani nivoi ispaše od strane zooplanktona ili protozoa).

Populacije bakterija u suspenziji mogu se okarakterisati brojnošću ćelija, koje se određuju kao ukupan broj ili broj kultivabilnih ćelija. Direktno brojanje bakterija (ukupan broj) smatra se najpouzdanijom metodom za procenu dinamike zajednice pošto se broje sve ćelije. Merenjem dimenzija bakterija može se odrediti ukupna bakterijska biomasa, a mogu se dobiti i informacije o dinamici populacije bakterija.

Ukupna brojnost. Direktno broje bakterije u vodi rutinski se vrši svetlosnim mikroskopom, a male veličine (obično 0,2–5 μm prečnik) ovih organizama može stvoriti probleme budući da su blizu rezolucije svetlosnog mikroskopa i takođe su u opsegu veličina tipično prisutnih organskih / neorganskih čvrstih čestica u jezerima i rekama. Ovi problemi mogu biti u velikoj meri prevaziđeni pomoću fluorescentne mikroskopije koje olakšavaju detekciju bakterija, jer se boja ne vezuje za neživu komponentu. Koriste se različite boje: akridin oranž (sa DNK i RNK daje zelenu i narandžastu fluorescenciju), DAPI (sa DNK daje plavi kompleks) i druge (slika 6). Postupak za direktno brojanje podrazumeva filtriranje poznatog volumena uzorka, bojenje filtera i posmatranje filtera fluorescentnom mikroskopijom. Uzorci iz jezera i reka pokazuju vrlo veliku populaciju bakterija, sa pojedinačnim ćelijama određene veličine i oblika. Takođe se može izvršiti brojanje primenom skenirajućeg elektronskog mikroskopa, ali se ovaj način mnogo ređe koristi.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



Slika 6. Bakterije obojene akridin oranžom pod fluorescentnim mikroskopom (zelene ćelije su žive, narandžaste mrtve) (levo) i DAPI fluorescentnom bojom (desno)

Brojnost kultivabilnih bakterija. Broj metabolički aktivnih heterotrofnih bakterija se može lako izvršiti zasejavanjem uzoraka na hranljive podloge i brojanjem kolonija. Za čiste vode inokulum može da bude direktno iz uzorka, a npr. iz mezo- i eutrofnih jezera prave se desetostepena razdredenja. Brojnost bakterija se izražava kao broj jedinica koje formiraju kolonije (CFU), obično u 1 mL. Na ovaj način se dobija informacija o ukupnom broju metabolički aktivnih heterotrofnih bakterija (broj kultivabilnih heterotrofnih bakterija), ali i u ovom slučaju postoje brojni problemi. Na primer, heterotrofi sa posebnim nutritivnim zahtevima neće moći da rastu na uobičajenim podlogama, a ne mogu se ostvariti ni fizičko-hemijski parametri koji odgovaraju svim heterotrofima (npr. pH, koncentracija kiseonika, temperatura itd).

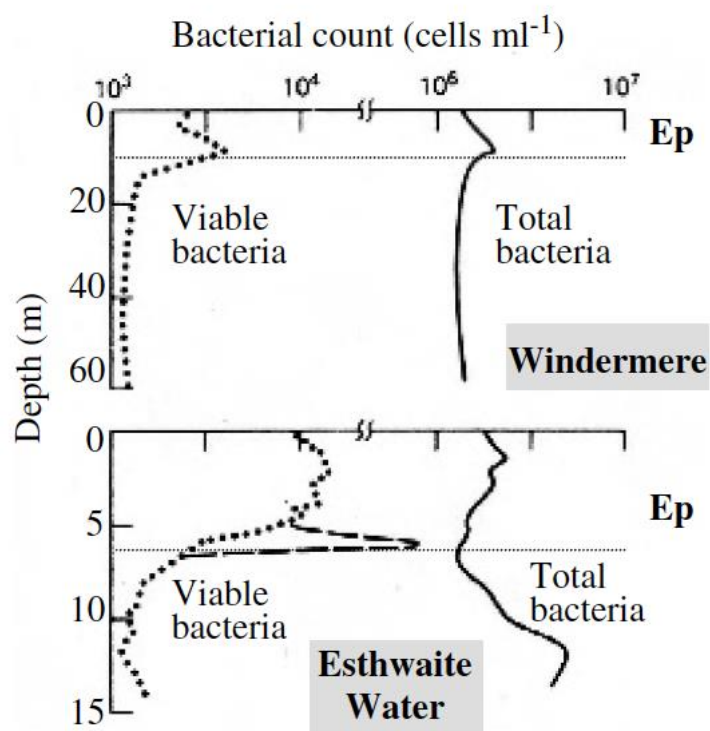
Ukupan broj bakterija u slatkovodnim sredinama je nepromenljivo veći od kultivabilnog broja. Ovo se vidi, na primer, gde je ukupna brojnost bakterija u nekom slatkovodnom jezeru 10^6 – 10^7 /mL, a kultivabilni broj je npr. 10^3 – 10^4 CFU/mL. Dakle, samo jedna od 1000 bakterija se detektuje kao deo kultivabilne brojnosti. Brojnost vijabilnih, kultivabilnih bakterija se može odrediti i metodom najverovatnijeg broja, koji se određuje inokulacijom odgovarajućih razredjenja u tečne podloge. Nakon inkubacije prebroje se epruvete u kojima ima rasta i odredi se karakterističan broj, preko kojeg se iz tabele po McCrady -ju može odrediti brojnost kultivabilnih heterotrofa.

Razlike između ukupnog i kultivabilnog broja odražavaju visok stepen heterogenosti unutar prirodnih mikrobih zajednica, a nastaju iz dva glavna razloga: (1) većina bakterija je metabolički neaktivna - iako su ovi organizmi u stanju da postanu metabolički aktivni kada se uslovi poboljšaju, ne formiraju kolonije kada se inokulišu na hranljivi agar i označavaju se kao 'nekultivabilne'; (2) mnoge metabolički aktivne bakterije zahtevaju posebne uslove rasta koji se ne ostvaruju u rutinskom laboratorijskom radu.

Vrednosti za ukupan i kultivabilan broj planktonskih bakterija variraju u zavisnosti od trofičnog statusa vode i položaja unutar vodenog stuba. Poređenje mezotrofnog jezera Windermere i eutrofnog Esthwaite (UK) ukazala je na viši broj ukupnih bakterija (10^7 /mL) i niži broj kultivabilnih ćelija (oko 10^4 CFU/mL) (slika 7). U jezeru bogatom hranljivim

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

sastojcima, ukupan broj bakterija je posebno visok u hipolimnionu, gde se akumulira detritus algi, što obezbeđuje organski bogatu sredinu. Prisustvo najvećeg broja kultivabilnih bakterija u epilimnionu eutrofnog jezera delimično odražava visok nivo rastvoreni organskog ugljenika (DOC) koji oslobađaju populacije fitoplanktona, ali mogu i odražavati probleme u kultivisanju striktno anaerobnih i izbirljivih bakterija iz hipolimniona.



Slika 7. Ukupan i vijabilni broj bakterija u vodi dubokog mezotrofnog jezera (Windermere, UK) i plitkog eutrofnog jezera (Esthwaite Water, UK) tokom letnje stratifikacije; isprekidana linija je maksimum u epilimnionu (Ep) (Horne and Goldman, 1994; Jones, 1971)

5.3.1. Produktivnost bakterija

Produktivnost bakterija je dinamičan aspekt funkcionisanja zajednice i važna komponenta formiranja i prenosa biomase u slatkovodnim mikrobim lancima ishrane. Kao i kod ostalih jezerskih biota, produktivnost se odnosi na unutrašnju stopu povećanja biomase i može se izraziti kao „neto“ i „bruto“, gde je:

$$\text{Neto produktivnost} = \text{Ukupna produktivnost} - \text{Interni gubitak mase}$$

Bruto produktivnost planktonskih bakterija je osnovna stopa povećanja biomase i zbir je svih anaboličkih (sintetičkih) procesa koji podstiču rast. Unutrašnji gubitak mase uključuje kataboličke procese (razgradnje) kao što su disanje i izlučivanje/sekrecija egzoenzima.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Neto produktivnost daje meru osnovne stope rasta populacija pre nego što se u obzir uzmu spoljni faktori kao što su ispaša, parazitizam i taloženje. Neto produktivnost i povećanje populacije su prema tome sasvim različiti koncepti, iako je produktivnost očigledno važan faktor povećanja populacija. Iako se obično produktivnost meri kao stopa povećanja težine suve biomase, ove vrednosti se obično prevode u sadržaj ugljenika i izražava se kao porast mase ugljenika po jedinici zapremine vode na dan ($\text{mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

Merenje produktivnosti. Produktivnost bakterija može se odrediti referencom na niz parametara koji su svi direktno povezani sa stopom rasta. Ovo uključuje:

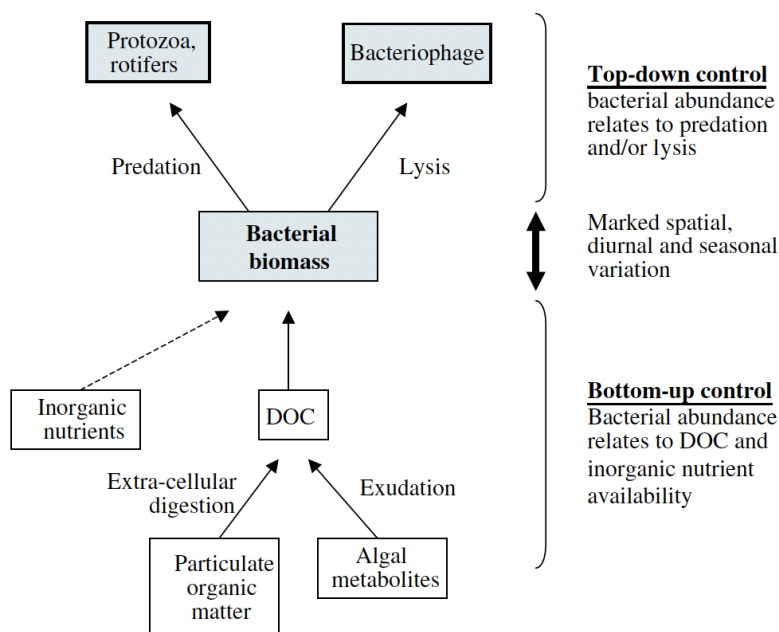
- **Stopu ćelijske deobe.** Određivanje broja ćelija koje su u deobi unutar populacije.
- **Procenu heterotrofne aktivnosti.** Utvrđivanje brzine razgradnje organske materije, preko broja kultivabilnih heterotrofnih bakterija. Fiksaciju CO_2 koja se ne vrši na svetlosti obavljaju isključivo heterotrofne bakterije i ta informacija pruža koristan indeks heterotrofne aktivnosti. Ova fiksacija CO_2 je niska u oligotrofnim jezerima, u smislu proporcije u odnosu na fototrofnu fiksaciju CO_2 (%). Srednje vrednosti za 14 godina u oligotrofnom jezeru Lorens Lejk (SAD) iznosi $4,7 \text{ g C m}^{-2} \text{ y}^{-2}$, odnosno 13,3 %. Ove vrednosti rastu sa povećanjem koncentracije nutrijenata.
- **Unošenje radioaktivnih prekursora.** Primenjuju se izotopi C^{14} (npr. glukoza), S^{35} (kao SO_4^{2-} grupa) ili H^3 (u timidinu, leucinu i sl), pa se prate ovi izotopi u ekosistemu (DNK i proteini). Npr. *in situ* se inkubiraju bakterije sa obeleženim timidinom oko 45 min. i određuje se porast DNK sa radioaktivnim izotopom. Produktivnost se onda preračunava na masu ugljenika koja je pokazatelj produktivnosti. Timidin se mnogo brže preuzima, metaboliše i ugrađuje u DNK kod heterotrofnih bakterija nego kod drugih organizama, pa je ova metoda pogodna u uzorcima iz prirodnih sredina (sa cijanobakterijama, algama, gljivama itd).

5.3.2. Regulacija bakterijskih populacija i biomase

Širok spektar faktora životne sredine utiče na bakterijsku biomasu u slatkovodnim sistemima, uključujući predatorstvo (uglavnom praživotinje i rotifere), parazitizam (virusi) i dostupnost hranljivih sastojaka (neorganske hranjive materije, rastvoreni organski ugljenik). U pogledu mikrobnih lanaca ishrane, ovi različiti faktori deluju odozgo prema dole ili odozdo prema gore (slika 8). Pored faktora lanaca ishrane, promene u hemijskom okruženju (npr. sezonski utrošak kiseonika u hipolimnionu) takođe utiču na brojnost bakterija.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Istraživanja su pokazala da je abundanca bakterija povezana sa predacijom i lizom, a u drugom slučaju je povezana sa dostupnim nutrijentima.

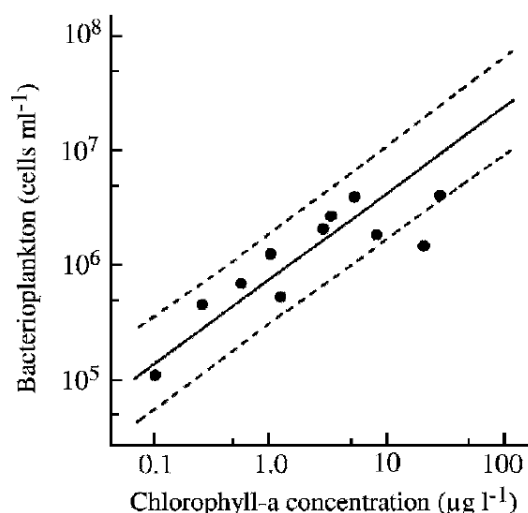


Slika 8. Kontrola bakterijske biomase od gore ka dole i od dole ka gore: DOC – rastvoreni organski ugljenik, a strelice ukazuju na tok ugljenika

Poređenje podataka iz niza pelagičnih sistema ukazuju na visok stepen korelacije između populacije bakterija i fitoplanktona, sa bliskim kvantitativnim sličnostima između slatkovodnih i morskih sredina (slika 9). Korišćenje akridin oranža radi određivanja ukupne brojnosti bakterija je pokazalo matematičku vezu ukupnog broja bakterija (C_t) i biomase algi (chl-a):

$$C_t = 5,867 + 0,776 \log(\text{chl-a})$$

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



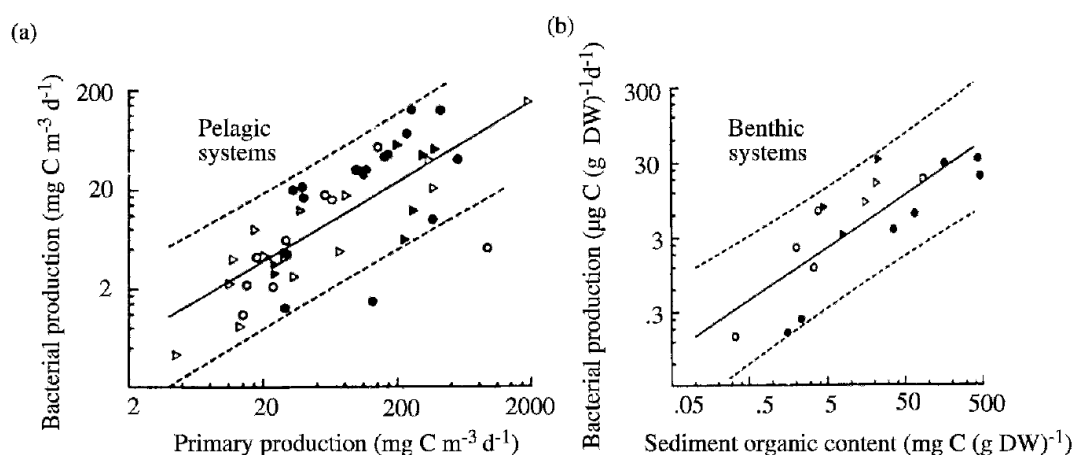
Slika 9. Korelacija između bakterioplanktona i populacije fitoplanktona (konc. hlorofila-a) u slatkovodnim sistemima: isprekidane linije su 95% granice pouzdanosti regresione linije - podaci za morske i vode estuara daju blisko sličan grafikon (sprema Bird & Kalff, 1984)

Korelacija između populacija se takođe poklapa između primarne i sekundarne produktivnosti. Ovo se posebno vidi dobro u fotičkoj zoni jezera i okeana, gde je proizvodnja bakterija u opsegu od $0,4\text{--}150 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ i iznosila je u proseku 20 % primarne produkcije. Doprinos bakterija proizvodnji je još veća ako se u obzir uzmu i regije ispod fotičke zone, što dostiže 30 % primarne proizvodnje u celom vodenom stubu. Heterotrofna bakterijska produktivnost je očigledno glavna komponenta sekundarne produktivnosti u pelagičkim sistemima i iznosi oko dva puta makrozooplanktonske produktivnosti kao dela primarne proizvodnje. Bliska sprega algalne i bakterijske produktivnosti je sveukupno svojstvo jezera i ne odnosi se na analize unutar vodenog stuba.

Merenje dubine primarne i sekundarne produktivnosti u grupi jezera sa malo hranljivih sastojaka pokazala su velike vertikalne razlike između primarne i sekundarne produktivnosti sa maksimumom u određenim vremenskim tačkama.

U bentosnim sistemima izražena je produktivnost bakterija po jedinici suve mase sedimenta i kreće se od oko $0,1\text{--}50 \text{ (g DW) d}^{-1}$. Većina jezerskih sedimenata je znatno ispod fotičke zone i nema fotosintetske populacije algi. U ovoj situaciji, produktivnost bakterija je više povezana sa dostupnošću razgradive biomase pre nego izlučevina algi. Postoji opšta korelacija između produktivnosti, populacije bakterija i sadržaj organskog C u sedimentu (slika 10), mada neki sistemi sa visokim stopama bentosne primarne proizvodnje (npr. koralni grebeni) imaju veću stopu bakterijske proizvodnje od očekivane.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



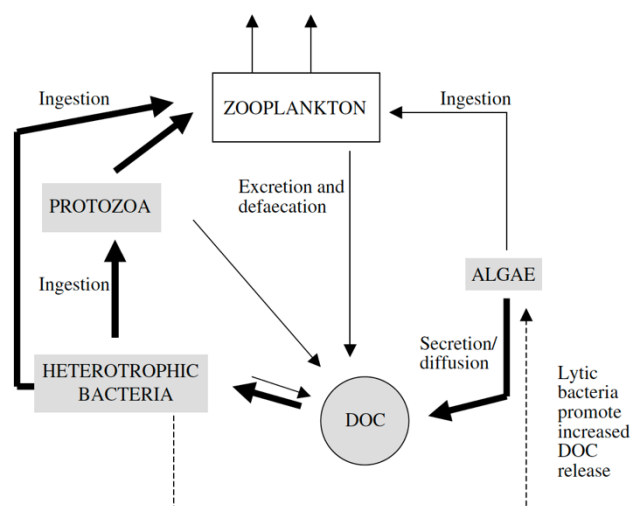
Slika 10. Veza između bakterijske produktivnosti i glavnog izvora hrane u pelagičkim i bentosnim sistemima: (a) produktivnost bakterioplanktona i primarna proizvodnja, gde je glavna zaliha hrane rastvoreni organski ugljenik (DOC) oslobođen fitoplanktonom (b) bentosna bakterijska produktivnost i organski sadržaj sedimenta, gde je glavno snabdevanje hranom organski detritus. Na oba grafikona produktivnost bakterija je izmerena uzimanjem timidina (krugovi) ili drugim metodama (trouglovi), za slatkovodne (crni simboli) i morske (beli simboli) sisteme (slika po Cole et al., 1988)

5.3.3. Primarna i sekundarna produkcija

Veza između primarne i sekundarne produkcije u pelagijskom sistemu ukazuje da rast bakterija i fitoplanktona predstavlja odvojen odgovor na uobičajene faktore (npr. neorganske hranljive materije, temperatura) ili da je rast bakterija direktno povezan sa česticama ili rastvorljivi materijal izveden iz fitoplanktona.

Protok organskog ugljenika od algi do bakterija putem eksudata algi (mikrobna petlja) je važan deo lanaca ishrane. Oslobođanje eksudata u rastvorenom obliku organskog ugljenika (DOC) od strane algi uključuje procese pasivne difuzije (fotosintetske proizvode), aktivno lučenje (vanćelijski enzimi) i raspad ćelija (liza). U aktivno rastućoj i fotosintetskoj populaciji fitoplanktona, proizvodnja DOC se uglavnom javlja kao pasivno oslobađanje fotosintetskih proizvoda, što iznosi maksimalno 10 % primarne produktivnosti. Ovo otpuštanje DOC-a pruža direktnu vezu između algi i produktivnosti bakterija, pri čemu se DOC javlja kao glavni supstrat za rast bakterija. Indirektne veze takođe se javljaju preko populacije zooplanktona, gde deo protoka ugljenika iz algi oslobađa nazad u životnu sredinu kao izlučeni i fekalni DOC (slika 11). Sposobnost bakterija i drugih mikroheterotrofa da preuzmu organska jedinjenja koja oslobađaju alge su demonstrirane u ranim studijama. Npr. u estuarijama se fotosintetski rastvoreni ugljenik (PDOC) proizvodi oko $0,13 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, a potrošnja od heterotrofa je $0,10\text{--}0,12 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. U ovom sistemu je očigledno ubrzano i gotovo potpuno heterotrofno unošenje PDOC u kratkom roku od oslobađanja od strane autotrofne zajednice.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



Slika 11. Direktne i indirektne veze između produktivnosti algi i bakterija u vodenom stubu jezera: Sadržaj fosfora zooplanktona DOC je posebno važan za rast bakterija u uslovima ograničenog P (pune strelice označavaju protok ugljenika, uključujući mikrobnu petlju)

Važno je spomenuti da i litička aktivnost može značajno doprinosti DOC, posebno u slučaju cijanobakterija, bilo preko cijanofaga ili bakterije *Lysobacter*.

5.3.4. Bakterijska produktivnost i lanci ishrane

Kvantitativna analiza produktivnosti bentosnih i pelagičnih organizama značajno se razlikuje. Efikasnost kojom bakterije pretvaraju DOC u jezeru u bakterijsku biomasu pruža informacije o ukupnoj količini ugljenika (fluks ugljenika) koja prolazi kroz populaciju bakterija. Unutar fotičke zone eutrofnog jezera, bakterijska proizvodnja je oko 20 % primarne proizvodnje po jedinici zapremine jezerske vode. Ako je efikasnost pretvaranja supstrata u bakterijsku biomasu 50%, tada približno 40% fluksa primarne proizvodnje prođe kroz bakterije u ovom delu vodenog stuba. Unutar celog vodenog stuba proizvodnja bakterija u proseku iznosi oko 30 % primarne proizvodnje, dajući 60 % fluksa primarne proizvodnje putem bakterija. Ove vrednosti efikasnosti rasta od 50 % su u skladu sa normalno prihvaćenim nivoima 40–60 %, na osnovu zapažanja o usvajanju i efikasnosti konverzije jednostavnih ¹⁴C-organskih molekula od strane bakterija. Efikasnost bakterijskog rasta (BGE) ne zavisi samo od konverzije jednostavnih do složenih organskih molekula (bakterijska produktivnost, B_p), već i od gubitaka ugljenika usled bakterijskog disanja B_r , gde je:

$$BGE = BP / (BR + BP)$$

Nedavne studije pokazale su da je bakterijsko disanje generalno visoko u vodenim sredinama, i efikasnost rasta bakterija treba revidirati do vrednosti od <10-25% u većini

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

vodenih sistema. Količina ugljenika koja teče kroz bakterijsku populaciju je tako veća nego što je prvobitno procenjeno. U nisko-hranljivim (oligotrofnim) sistemima disanje bakterija zapravo može premašiti neto proizvodnju primarnih producenata fitoplanktona. U ovoj situaciji, gde ukupan ugljenik koji prerađuju bakterije prevazilazi onaj koji fiksira fitoplankton, bakterije moraju takođe koristiti druge izvore ugljenika za disanje i sistem je neto heterotrofan.

Produktivnost bakterija je mnogo veća u eutrofnim nego u oligotrofnim jezerima, što dovodi do razlike u populaciji koje su ranije zabeležene. Ove razlike u produktivnosti vide se na primeru eutrofnog Lake Mendota (SAD), koje je 5 puta veće od oligotrofnog Mirror Lake (SAD) (tabela 6). Prelaz iz eutrofnog do oligotrofnog jezera može signalizirati promenu od neto autotrofije (gde je najviše unosa ugljenika putem fotosinteze algi) do neto heterotrofije (gde se najviše ugljenika unosi u bakterije). Ovaj prelazak na dominaciju bakterija uključuje tranziciju od lako usvojivog autohtonog ugljenika koji proizvode alge (DOC) do slabo usvojivog alohtonog (egzogenog) ugljenika.

Bakterijska produktivnost u vodenom stubu eutrofnog jezera kao što je Mendota Lake (SAD) je mnogo veće nego u sedimentu, što implicira da pelagične bakterije imaju veću heterotrofnu ulogu od bentosnih u uslovima sa puno hranljivih sastojaka. Čini se da je obrnuto tačno za oligotrofna jezera, gde bentosni organizmi dominiraju sekundarnom produktivnošću bakterija. U složenoj trofičkoj mreži, isti organski molekuli se mogu usvajati i reciklirati nekoliko puta, a sekundarna proizvodnja od strane organizama poput bakterije može biti približno velika kao i primarna proizvodnja.

Tabela 26 Bakterijska produktivnost u vodenom stubu i na sedimentu eutrofnog i oligotrofnog jezera (prema Cole i sar, 1988)

	Bakterijska produktivnost u vodenom stubu	U vodenoj masi (C m⁻³ d⁻¹)	U sedimentu (C m⁻² d⁻¹)	Ukupna produkcija
Eutrofno jezero Mendota, USA, duboko 12.4 m	23.2	288	83.5	371.5
Oligotrofno jezero Mirror Lake, USA, duboko 5.75m	3.0	17.4	57.6	75

5.4. Bakterijski biofilmovi

U slatkovodnim ekosistemima bakterije mogu da rastu kao planktonski (slobodno plutajući) i bentosni mikroorganizmi (vezani za supstrat). Ravnoteža između ova dva

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

stanja zavisi od faktora životne sredine kao što je kretanje vode i dostupnost supstrata. U otvorenim vodama, planktonske bakterije čine glavnu fazu, dok u protočnim vodama i u slučaju veće dostupnosti podloge dovodi do razvoja udruženih zajednica, pre svega biofilmova.

Biofilm je u osnovi zajednica mikroorganizama (u prirodnim sredinama obično bakterija i alge) koja je vezana za površinu. U slučaju bakterijskih biofilmova, gde su pojedinačne ćelije tipično nepokretne i usko povezane sa vanćelijskim matriksom, mikrosredina se veoma razlikuje od one u planktonskoj fazi. Direktno interakcije između organizama postaju posebno važne u biofilmovima, uključujući i genetičku razmenu između ćelija. Biofilmovi se javljaju na dodiru različitih faza u slatkovodnom okruženju, a to uključuje:

- granicu vazduh/voda, koja je prisutna na vrhu vodenog stuba i na dodiru vode i potopljenih džepova vazduha i mehurića,
- granicu voda/biomase, kao što je površina alge, zooplanktona i potopljenih viših biljaka,
- granicu voda / čvrsta neorganska površina, kao što su suspendovane čestice, sedimenti i velike stene i kamenje.

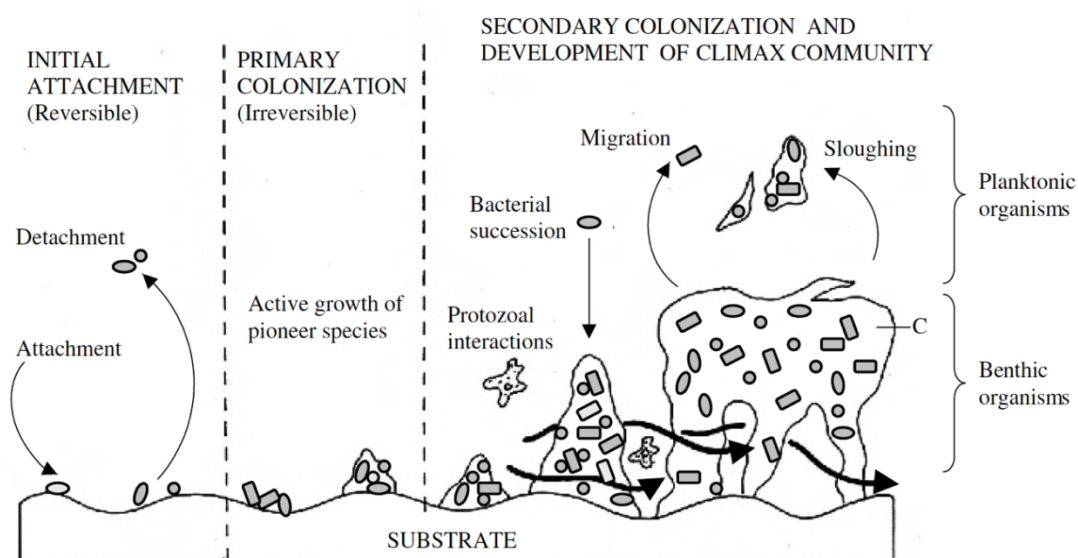
Biofilmovi su posebno važni na kamenju i sedimentu lotičkih zajednica, kojima dominiraju bentosni organizmi. Oni su takođe dobro prilagođeni okruženju tekuće vode, pošto gusta mikrobna zajednica koja se razvija na čvrstoj površini sposoban je da se odupre sili smicanja koju generiše protok vode.

Formiranje biofilma se vrši kroz nekoliko faza (slika 11):

Inicijalno vezivanje - Mesto na kojem se pojavljuje početno vezivanje ima važnu ulogu u budućem razvoju biofilma. Dostupnost hranljivih sastojaka će uticati na rast mikroba, a dostupnost svetlosti odrediće buduću kolonizaciju algama. Reverzibilno pričvršćivanje pionirskim bakterijama omogućava procenu sredine, a u slučaju da su uslovi povoljni doći će do ireverzibilnog vezivanja. Pokretljivost bakterija je važna za inicijalno vezivanje, omogućavajući ćelijama da se pozicioniraju i stupe u kontakt sa površinom, a zatim bakterije obično gube flagelu. Nepokretni sojevi pokretne vrste slabije formiraju biofilm. Vezivanje bakterija zahteva prisustvo tankog sloja organske materije (tzv. „kondicioni film“) na površini za koju bakterije adheriraju. Ovaj film za kondicioniranje površine nastaje adsorpcijom i polarnih i nepolarnih makromolekula na čvrstu površinu, pa se stvara dvostruki jonski film kada se pozitivno naelektrisani molekuli vežu za negativno naelektrisan film. Bakterije se vezuju za kondicioni film preko polimera na ćelijskoj površini, uključujući posebne molekule (adhezine). Adhezini su na površini ćelije i to su najčešće fimbrije, koje prolaze kroz dvostruki jonski sloj. Primarna kolonizacija se dešava nakon što se pionirske bakterije ireverzibilno vežu za površinu i formira se populacija bakterija. Rast biofilma uključuje povećanje mikrobne biomase sa proizvodnjom

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

ekstracelularnog matriksa. Povećanje mikrobne biomase nastaje rastom i podelom postojećih organizama pri čemu se prvo formiraju mikrokolonije, a zatim mikroorganizmi dalje prerastaju površinu.



Slika 11. Nastanak bakterijskog biofilma: protok vode sa nutrijentima u zreloj zajednici biofilma (pokazuju pune strelice); C= grupe bakterijskih ćelija

Rast u biofilmu i sekundarna kolonizacija. Dalji rast i razvoj biofilma uključuje dve glavne aktivnosti: kontinuirani rast i podela postojećih bakterija, što formira diskretne kolonije - one imaju tendenciju da formiraju velike klastere ćelija, odvojene vodenim kanalima i sa porama na površini. Uz to, dolazi i do sekundarne kolonizacije od strane drugih mikroorganizama procesom koadhezije i koagregacije. Tako u biofilmovima dolazi i do sukcesija bakterijskih vrsta.

Sazrevanje biofilma i odvajanje ćelija. Zreli biofilmovi, koji se javljaju na površinama stena i kamenja, su veoma složeni - i u pogledu mikrobiološke raznolikosti i u pogledu trodimenzionalne strukture. Trodimenzionalna struktura je određena arhitekturom polisaharida matriksa, sa međusobno povezanim kanalima i slobodnim protokom vode, što je otkriveno konfokalnom skenirajućom laserskom mikroskopijom. Ovaj protok vode je važan u prenošenju hranljivih sastojaka i kiseonika u različite delove biofilm, kao i za odvođenje otpadnih produkata. Primenom mikroelektroda utvrđene su velike razlike u koncentracijama kiseonika unutar biofilмова, u zavisnosti od debljine biofilma i broja aktivno metabolišućih ćelija. Zreli biofilmovi su u ravnoteži i ne pokazuju dalje povećanje biomase. U zrelim biofilmovima u prirodnoj sredini, pored bakterija se mogu naći i alge, protozoe, gljive, virusi i beskičmenjaci. U zreлом biofilmu bakterije razgrađuju matriks i luče površinski aktivne materije, što omogućava bakterijama da se oslobode iz biofilma i kolonizuju nove površine, a ovaj poslednji stadijum se naziva „odvajanje ćelija od biofilma“.

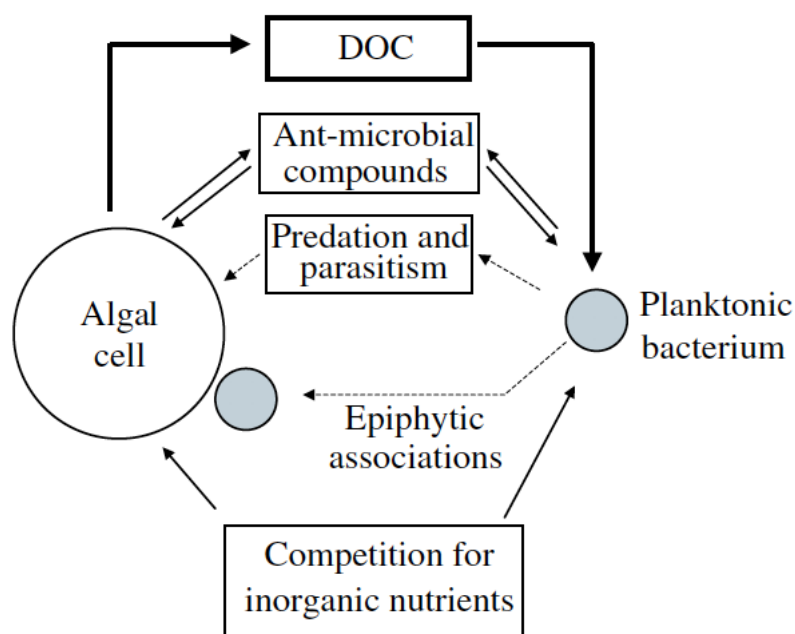
5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Kako se bakterijski biofilmovi sastoje od niza različitih vrsta, a svaka ulazi u zajednicu u određenom momentu, mora da postoji mehanizam za uspostavljanje posebne hijerarhije u udruživanju.

Koagregacija bakterija podrazumeva prepoznavanje i specifično vezivanje između različitih vrsta u suspenziji, a koadhezija adheriranje jedne vrste bakterija za drugu, prethodno adheriranu vrstu. Koadhezija omogućava sukcesije u biofilmu, a samo određene vrste mogu koadherirati, tako da sekundarni kolonizatori imaju specifičnost za primarne kolonizatore, a kasnije se i sekundarni kolonizatori sukcesivno udružuju. Koagregacija/koadhezija zavisi od interakcije lektina i šećera na površini ćelije, tako da se ovaj proces može zaustaviti dodatkom prostih šećera u mešovite zajednice u kojima se formira biofilm. Interakcije lektin-šećer su reverzibilne i visoko specifične.

5.5. Interakcija bakterija sa fitoplanktonom

U vodenom stubu jezera i drugih stajaćih voda, fitoplankton je u interakciji i sa planktonskim (slobodno živećim) i sa pričvršćenim (epifitskim) bakterijama (slika 12).



Slika 12. Opšte interakcije između fitoplanktona i bakterija. Planktonske alge stupaju u interakciju sa epifitnim i planktonskim bakterijama na različite načine. Mnoge od ovih interakcija su trofične, sa algama koje deluju kao direktan izvor hrane ili se takmiče sa bakterijama.

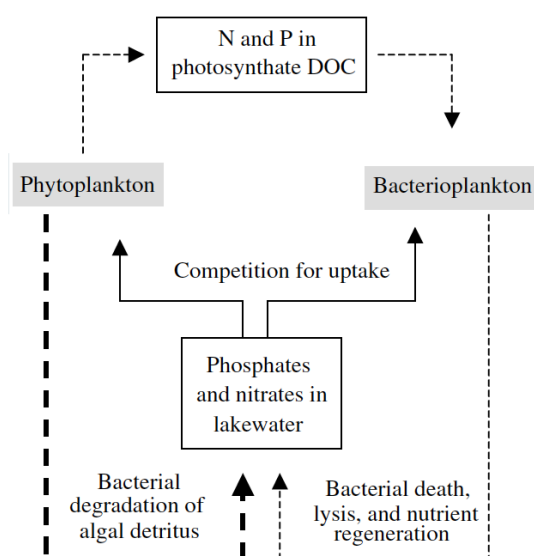
U prvom slučaju, interakcije su donekle „udaljene“, dok epifitske interakcije uključuju mnogo bliskiji kontakt, tj. interakciju. U nekim slučajevima epifitske asocijacije se razvijaju u simbiotski odnos, uz blisku metaboličku spregu, na obostranu korist oba organizma.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Interakcija bakterija i algi se može smatrati pozitivnim odnosom, pošto eksudati algi i rastvoreni organski ugljenik koji proizvode bakterije koriste bez uzrokovanja štete algama. Ipak, postoje i negativne interakcije, npr. u pelagijskoj zoni, gde je količina nutrijenata i prostora ograničena, dolazi do kompeticije različitih grupa organizama. U ovom slučaju javlja se kompeticija za neorganska jedinjenja, luče se antimikrobna jedinjenja i javljaju se antagonistički odnosi, kao što su predacija i parazitizam.

U jezerima, populacije fitoplanktona se smanjuju usled ispaše, taloženja, parazitizma i prirodne ćelijske smrti (liza). Čini se da je ovo poslednje pod direktnim uticajem dostupnih hranljivih sastojaka, jer u laboratorijskim kulturama algi do lize dolazi usled nedostatka hranljivih sastojaka. U prirodnim uslovima, prisustvo konkurentskih bakterija može dodatno smanjiti dostupnost hranljivih sastojaka, što dovodi do većeg nivoa odumiranja ćelija. Uticaj bakterija na fitoplankton ispitan je i u laboratorijskim i prirodnim sredinama.

Pokazano je da u usvajanju hranljivih materija bakterije imaju prednost u odnosu na alge, zbog manjih dimenzija i većeg odnosa površina/zapremina. Ovo se događa npr. za neorganski fosfat, ali bakterije imaju kompetitivnu prednost samo ako količina izvora ugljenika nije ograničena (slika 13). U uslovima ograničenog fosfora, opada nivo rastvorljivog P što dovodi do smanjenja broja ćelija algi i povećanja broja bakterija usled kompeticije. Ovaj trend se nastavlja sve dok se bakterije ne ograniče drugim nutrijentima, pre svega organskim ugljenikom. Značaj DOC-a u kompeticiji za neorganske hranljive sastojke je važan i u morskim i u slatkovodnim sredinama, gde je rasta bakterija pre ograničen dostupnim ugljenikom nego mineralnim materijama.



Slika 13. Interakcije između planktonskih algi i bakterije za glavne neorganske hranljive sastojke (azot i fosfor) u jezerskom vodenom stubu: pored direktne kompeticije za hranljive materije, metaboličke aktivnosti fitoplanktona (oslobađanje fotosintata DOC) i bakterija (degradacija algalnog detritusa) takođe utiču na dostupnost i usvajanje N i P.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

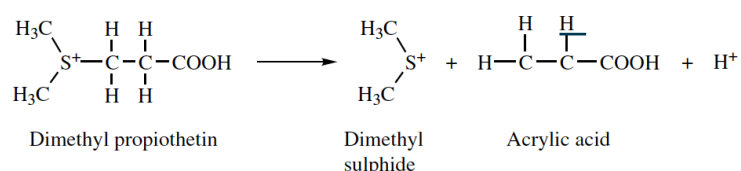
Kompeticija između algi i bakterija se komplikuje činjenicom da metabolička aktivnost jedne grupe može stimulisati rast druge. Oslobođanje fotosintetisanih jedinjenja od strane fitoplanktona može promovisati konkurentne aktivnosti bakterija obezbeđujući bakterijama jedinjenja ugljenika i na taj način im omogućava usvajanje mineralnih materija, koje bi inače bile dostupne algama. Suprotno tome, degradacija liziranih ćelija algi od strane bakterija rezultuje konverzijom organskih u neorganska jedinjenja P i N (mineralizacija), oslobađajući tako više rastvorljivih hranljivih sastojaka za alge. Ove složene interakcije su pokazane i u laboratorijskim uslovima, sa bakterijama i dijatomejama. Kada se bakterije dodaju u kulturu dijatomeja, u slučaju nedostatka fosfora se pokretljivost algi značajno povećava, a nema efekta ili se smanjuje pokretljivost pri nedostatku azota.

5.5.1. Antagonističke interakcije bakterija i algi

Alge mogu da proizvode antibiotike, a bakterije mogu da proizvode materije koje inhibiraju alge ili da smanjuju njihovu brojnost preko parazitizma, predacije i epifitnih asocijacija. Antagonizam koji se javlja rezultuje u smanjenju rasta i brojnosti jedne ili obe populacije. Antagonizam bakterija i cijanobakterija je posebno interesantan i bakterije se mogu koristiti u biokontroli cvetanja algi.

Značaj proizvodnje antibiotika u slatkoj vodi od strane algi je veoma velik. Pokazano je u marinskim sistemima da eukariotske alge mogu da luče antibiotike koji deluju na bakterije.

U slatkovodnim sistemima pokazano je da se broj epifitnih bakterija smanjuje od kolonijalnih zelenih algi, preko dijatomeja do dinoflagelata, što ukazuje da su dinoflagelate najveći producenti antibiotika. Primenom disk difuzione metode pokazano je da ekstrakti mnogih algi smanjuju rast bakterija, što se očituje kao zona inhibicije. Tako su antibiotske supstance identifikovane iz različitih eukariotskih algi, uključujući dijatomeje (nukleozidi, lipidi), hrizofita (akrilna kiselina) i zelenih algi (hlorelin, akrilna i masne kiseline). Izgleda da se akrilna kiselina proizvodi kod mnogih algi i aktivna je protiv širokog spektra bakterija (slika 14).



Slika 14. Formiranje akrilne kiseline od strane algi, tj. hrizofita

Rasprostranjena pojava i potencijalna ekološka važnost bakterija koje su u stanju da unište slatkovodne alge ispitivana je u uzorcima iz slatkovodnih jezera, rezervoara,

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

kanalizacije itd. Kada se uzorak vode razmaže na jednoslojan rast algi na čvrstoj podlozi, javljaju se zone lize, tj. plake. Ovo se javlja usled infekcije virusima ili usled prisustva litičkih bakterija u uzorku (*Lysobacter* sp.). Za bakterije koje liziraju alge/cijanobakterije važi da su:

- Gram negativne, nepokretne, štapićaste i identifikuju se kao miksobakterije. Strogi su aerobni i mogu lizirati cijanobakterije *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* i *Oscillatoria*.
- Prisutne u svim slatkim vodama koje su ispitivane. U jezerima i rezervoarima, litičke bakterije su prisutne i u vodenom stubu i na površini sedimenta.
- Postoji jasan odnos između populacija litičkih bakterija u vodenom stubu i biomase fitoplanktona. Utvrđena je pozitivna korelacija između broja litičkih bakterija i godišnje koncentracije hlorofila. Populacije litičkih bakterija su uglavnom visoke leti, kada je i koncentracija hlorofila visoka, posebno od cijanobakterija. U zimskim mesecima, litičke bakterije praktično nestaju iz vodenog stuba, ali se mogu detektovati na površini sedimenta.
- Visok nivo bakterija koje liziraju alge primećen u letnjim mesecima poreklom je i iz sedimenta i iz drugih voda koje se ulivaju. Ove bakterije se mogu detektovati i u neutralnim i alkalnim zemljištima u blizini vodenih ekosistema.

Ove bakterije koje liziraju fototrofe imaju veliki ekološki značaj.

Tabela 27 Antagonističke interakcije bakterija i cijanobakterija/algi

Način delovanja	Proces u koji je uključen	Primer roda
Ekstracelularna jedinjenja	Enzimi slični lizozimu	Myxobacteria
	Termostabilni antibiotici slični penicilinu	Cellovibrio i dr.
	Isparljiva jedinjenja male mol. težine – izoamil alkohol	Bacillus
Kontakt ćelija	Pričvrščivanje	Lysobacter, Flexibacter
Predacija	Hvatanje plena i liza	Myxococcus xanthus

5.5.1.1. Antagonizam

Da bi došlo do antagonizma litičkih bakterija neophodan je blizak kontakt sa cijanobakterijama, zbog toga što su litički enzimi ekstracelularni i nalaze se na površini bakterija. Liza cijanobakterija i algi vrši se preko enzima, antibiotika i volatilnih jedinjenja

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

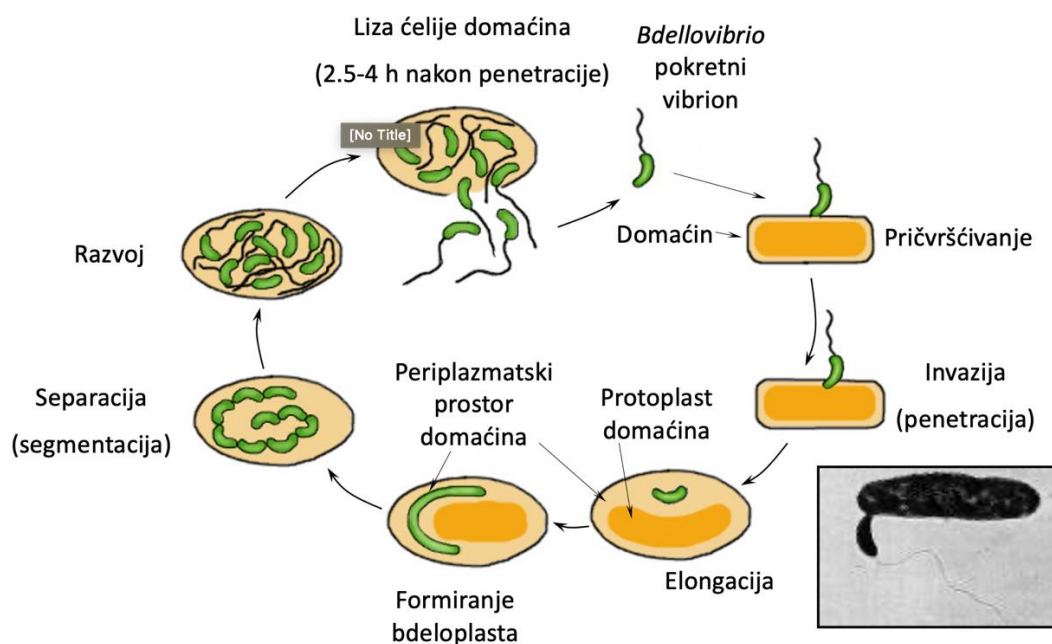
male molekulske mase. Alge mogu biti lizirane klizećim bakterijama, koje su prvo klasifikovane u *Myxobacteria*, a kasnije su izdvojene kao poseban rod *Lysobacter*. Liza započinje degradacijom ćelijskog zida, što sugerira da je za ovaj proces odgovorna aktivnost enzima - lizozima. Ova grupa enzima razgrađuje peptidoglikan ćelijskog zida prokariota (uključujući i cijanobakterije), proizvodeći osmotski osetljive gole ćelije (sferoplasti), koje lako pucaju. Proces započinje klizećim kretanjem bakterija prema cijanobakterijama, a hemotaksije se vrše preko kiseonika kao atraktanta. Nakon toga se pričvršćuju za ćelije cijanobakterija polarnim vrhom (obično blizu poprečnog septuma nitastih formi). Aktivnost enzima sličnih bakterijskim lizozimima razgrađuje peptidoglikan i dovodi do lize ćelija.

Takođe, izolovani su i termostabilni antibiotici iz supernatanta kulture *Cellvibrio* i drugih bakterija. Ovakve supstance se obično proizvede u stacionarnoj fazi, imaju malu molekulska masu (1kD) i deluju slično penicilinu. Inhibiraju sintezu ćelijskog zida vegetativnih ćelija (ali ne i heterocisti ili akineta) i stvaraju osmotski osetljiv sferoplast. Vegetativne ćelije se mogu oporaviti od lize ako se nađu u sredini u kojoj nema ovih enzima i ako je rastvor izotoničan. Pored toga, neke vrste *Bacillus* spp. oslobađaju isparljiva jedinjenja sa vrlo malim molekulskim masama, kao što je izoamil alkohol koji je toksičan i za cijanobakterije i za eukariotske alge.

5.5.1.2. Parazitizam

Bakterija *Bdellovibrio bacteriovorus* može da inficira gram-negativne bakterije, endoparazitira u njima i naknadno ih lizira. Ovi organizmi imaju dvofazni životni ciklus, koji podrazumeva slobodnoživeće pokretne forme i unutarćelijsku parazitsku reproduktivnu fazu. *Microcystis aeruginosa* prilikom cvetanja može se inficirati bakterijama sličnim *Bdellovibrio*, što je dokazano elektronskom mikroskopijom. Nakon infekcije ove bakterije su bile lokalizovane uglavnom u periplazmatskom prostoru, između ćelijskog zida domaćina i citoplazmatske membrane. Nakon toga se smanjuje količina citoplazme u ćelijama mikrocistisa, poremećaja unutrašnjih membranskih sistema (uključujući gasne vakuole i zrnaste inkluzije), a parazitska bakterija se umnožava i potom se oslobađa lizom u spoljašnju sredinu.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



Slika 15. Životni ciklus bakterije *Bdellovibrio* sp.

5.5.1.3. Predacija

Bakterija *Myxococcus xanthus* može da lizira cijanobakteriju *Phormidium*. Proces započinje tako što se bakterije prvo pričvrste za cijanobakterije preko površinskih ekstruzija, a zatim stvaraju nepravilne nakupine oko filamenata cijanobakterija. Podjela i migracija bakterije rezultuje potpunim zatvaranjem filamenata u veliku koloniju miksobakterija, prečnika 1–6 mm. Središte kolonije sadrži cijanobakteriju u različitim fazama degradacije, dok je periferija sastavljena od guste mase miksobakterijskih ćelija. U laboratorijskim uslovima liza je bila uočljiva i kada je inokulum u kulturu *Phormidium* dodat vrlo mali inokulum miksobakterija (1 miksobakterija na 10^3 ćelije cijanobakterija), što ukazuje da ovi organizmi mogu biti visoko efikasni u antagonizaciji fitoplanktona u vodenim sredinama.

5.5.2. Epifitna asocijacija fitoplanktona i bakterija

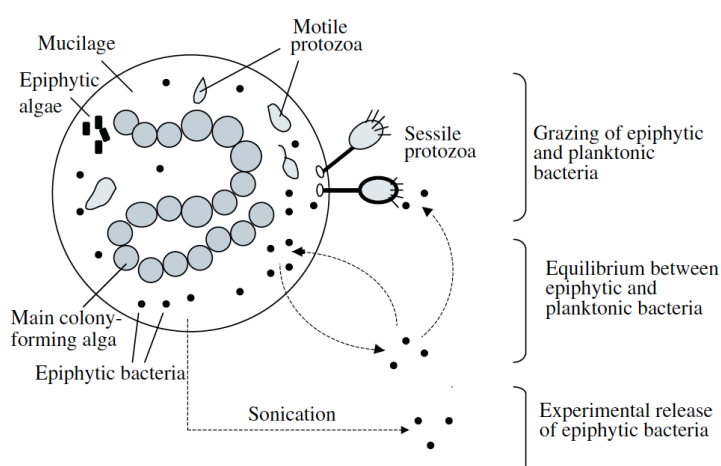
Bakterije stupaju u kontakt sa neorganskim (stene i fini sedimenti) i organskim supstratima (sedimentni detritus, makrofite i planktonska biota). Populacije bakterija koje se mogu razviti na ovim površinama su prilično složene i strukturirane zajednice (npr. biofilmovi na izloženim površinama stena u potocima) ili više jednostavnih grupa (npr. pojedinačne bakterije ili mali agregati na fitoplanktonu).

Sredina neposredno oko površine alge se naziva fikosfera i podseća na druge dodirne površine, kao što su koren (rizosfera) i list (filosfera), a sve ove površine imaju visoku koncentraciju hranljivih materija. Ove hranjive materije nastaju kao vanćelijski proizvodi iz algi i mogu podržati rast bakterijskih populacija. Promocija fikosferne bakterijske

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

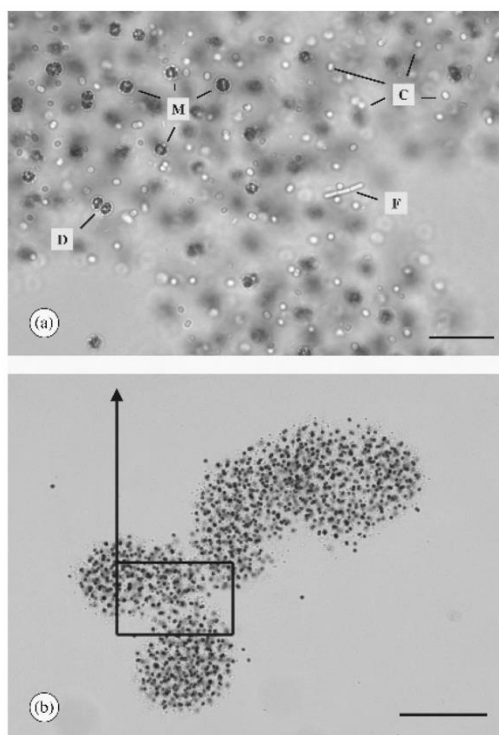
populacije zavisi i od drugih biohemijskih interakcija (npr. proizvodnja antibiotika od strane algi), kao i fizičkih svojstva površine algi (npr. prisustvo ili odsustvo sluzi). Ovi faktori variraju u zavisnosti od fiziološkog stanja i vrste algi u ovoj interakciji, ali i aktivnosti pasućih praživotinja i sl.

Iako mnoge vrste fitoplanktona tipično imaju relativno nizak nivo epifitnih bakterija, posebno kada su u zdravom stanju, ovo ne važi za cijanobakterije. Razne morfološke i fiziološke osobine cijanobakterija čine ih posebno pogodnim za formiranje i održavanje velike populacije povezanih bakterija, uključujući tendenciju da se agregiraju kao nitaste ili globularne kolonije i proizvode obilnu količinu vanćelijske sluzi. Visoka količina hranljivih materija formira fikosferu koja okružuje ove organizme, što predstavlja mikrookolinu za bakterije, protozoe i beskičmenjake. Kod velikih kolonija cijanobakterija kao što su *Anabaena* i *Microcystis*, fikosfera je pogodno mesto za razvoj složene mikrobne zajednice. Ovo pokazuje izvesnu sličnost sa bakterijskim biofilmom. Ove mešovite epifitske zajednice javljaju se kao mikrokosmos unutar vodenog stuba, formirajući mini-ekosisteme u okviru šireg jezerskog ekosistema, sa sopstvenim dinamičkim interakcijama, lokalnim lancima ishrane i protokom energije. Mikroorganizmi prisutni u sluzi uključuju epifitske cijanobakterije i alge (npr. *Cyanothece*, *Synechococcus*), praživotinje (npr. cicijate i flagelate) i bakterije. Prisutni su i mikroorganizmi fikosfere na površini sluzi (sesilne protozoe) i unutar okolnog vodenog medija (bakterije). Dinamičke interakcije između mikroorganizama javljaju se unutar i između svih ovih regiona fikosfere, što rezultuje potencijalno složenim lancima ishrane u ovom malom ekosistemu. Bakterije koriste sluz kao supstrat i imaju koristi od lučenja algi, ali bakterije pasu pokretne i sesilne praživotinje. Ove bakterije povezane sa sluzi su u dinamičkoj ravnoteži sa planktonskim populacijama, a mogu se eksperimentalno osloboditi za određivanje brojnosti bakterija sonikacijom.



Slika 16. Mikrokosmos algi: dijagram predstavlja mikrobnu raznolikost i interakcije u površinskom mikrookruženju (fikosfera) kolonijalne cijanobakterije *Anabaena*

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



Slika 17. Epifitne bakterije u *Microcystis aeruginosa*. (a) Detaljan prikaz kolonije svetlosnim mikroskopom (b) koja prikazuje pojedinačne ćelije mikrocistisa (M), ugrađene u sluzni matriks. Veličina ćelija je od 3–5 μm , a neke ćelije (D) su upravo završile podelu. Pojavljuju se kokoidne epifitne bakterije (C) kao svetla tela, sa lancem nitastih bakterija (F). (b) Cela kolonija *Microcystis* sa brojnim ćelijama, prikazuje tipičan nepravilan izgled ovog kolonijalnog organizma. Epifitne bakterije se teže uočavaju pri ovom uvećanju. (skala = 100 μm)

U vodenom stubu fikosfera obezbeđuje:

- Zonu vezivanja unutar inače potpuno planktonske sredine i podržava ravnotežu između vezanih i nevezanih bakterija. Povezane i nevezane bakterije u fikosferi verovatno pokazuju iste fiziološke razlike koje ispoljavaju bakterije u biofilmu.
- Utočište od ispaše koju vrši zooplankton. Zooplankton koji se ovako hrani nema pristup bakterijama koje su na većim algalnim ćelijama i kolonijama. Bakterije fikosfere su podložne paši od strane praživotinja (cilijate i flagelate).
- Površinsku sluz kao supstrat za heterotrofne bakterije. U slučaju cijanobakterija, razne studije su pokazale da rastvorljivi i koloidni eksudati mogu lako da se asimiluju od strane mnogih epifitnih mikroba, uključujući heterotrofne bakterije i cilijatne praživotinje.
- Mesto privlačenja pokretnih organizama koji se kreću kao odgovor na hemotaksije.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

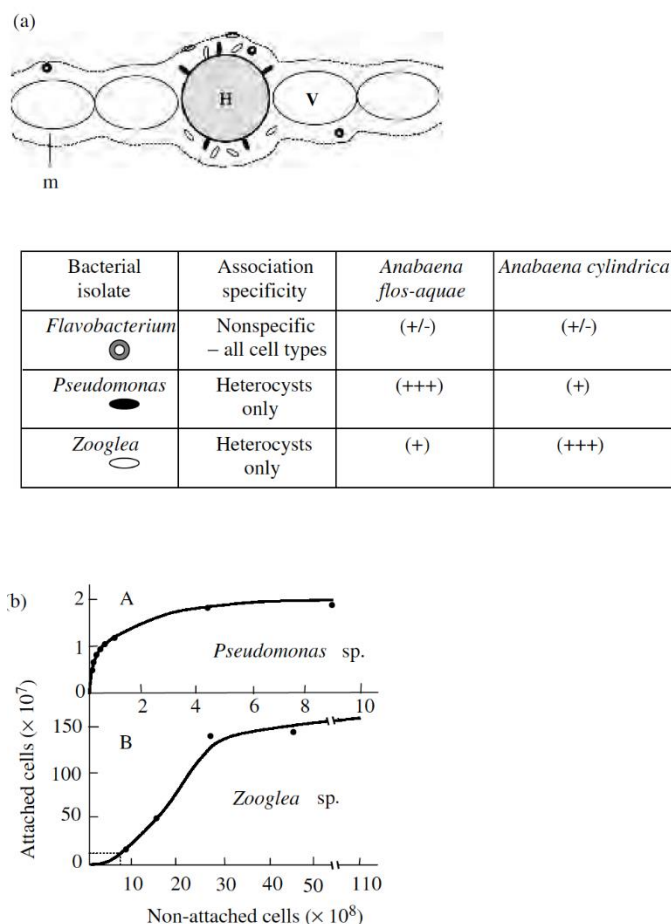
Iako se obično fikosfera razmatra u odnosu na pelagično okruženje, ona je važna i u bentosnim sredinama. Alge sa epifitnim mikroorganizmima se nalaze i u sedimentu (gde možda rastu alge *in situ* ili se talože sedimentacijom iz vodenog stuba) i kao pričvršćene alge u brzo tekućim vodama.

Na algama ili cijanobakterijama koje luče sluz mogu se uočiti kokoidne ili štapićaste forme bakterija. Ponekad se bakterije mogu uočiti kao diskretan sloj na distanci od površine algi, ali u zoni sluzi koju luči alga. Položaj bakterija i algi se može preciznije odrediti upotrebom elektronskog mikroskopa, kako na površini alge (SEM), tako i u unutrašnjosti sluzavog sloja (TEM). Određivanje brojnosti epifitnih bakterija je veoma teško primenom svetlosne ili elektronske mikroskopije, ali se mogu osloboditi iz sluzi ultrazvukom i broj se može odrediti različitim metodama. Kada se odredi brojnost epifitnih bakterija u sluzi vrsta *Microcystis* iz vode hipereutrofnog jezera i u sedimentu i uporedi sa planktonskim zajednicama može se ustanoviti da:

- U vodenoj masi, bakterije povezane sa *Microcystis* sp. čine 19–40 % ukupne brojnosti bakterija. Ove bakterije su bile manje aktivne (produkcija bakterija / ćelija) u poređenju sa slobodnoživećim bakterijama, a njihova produktivnost je bila samo 7–30 % od ukupne populacije.
- U sedimentu, bakterije povezane sa sluzi čine 1–5 % ukupne bakterijske abundance, ali doprinosi 8-13% ukupnoj bakterijskoj produkciji tokom leta.

Asocijacija bakterija sa cijanobakterijama se javlja u mešovitim populacijama i varira u zavisnosti od mehanizama adhezije i metaboličke kooperacije. Adhezija bakterija za cijanobakterije zavisi od samih vrsta: npr. *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp. I *Zooglea* sp. i niti *Anabaena flos-aque* i *Anabaena cylindrica*.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu



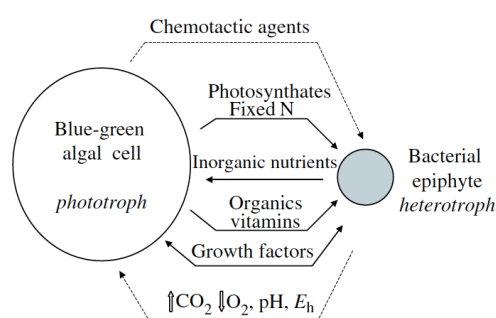
Slika 18. Specifičnost i kinetika bakterijske adhezije na filamente *Anabaene*: (a) dijagram za tri slatkovodna izolata - *Flavobacterium* sp, *Pseudomonas* sp i *Zooglea* sp. H - heterocista, V-vegetativna ćelija, m - površina površine; (b) kinetika adhezije *Pseudomonas* sp. i *Zooglea* sp. Koja je povećana (prikačene ćelije) u slučaju porasta koncentracija planktona (slobodne) ćelije (na osnovu Luptona i Marshall, 1981)

Flavobacterium se ne vezuje specifično, dok je *Pseudomonas* pokazivao visoku adheziju za heterociste *A. flos-aquae*, a *Zooglea* za heterocista *A. cylindrica*. Iako se i *Pseudomonas* i *Zooglea* specifično vezuju za heterociste, razlikuje se priroda ovog procesa adhezije. Elektronska mikroskopija je pokazala da se *Pseudomonas* pričvršćuje direktno na ćelijski zid alge i bio je prisutan kao jedan sloj ćelija, dok su ćelije *Zooglea* bile uglavnom suspendovane (slučajna orijentacija) u okviru sluzi i javljaju se kao višeslojna populacija. I *Pseudomonas* i *Zooglea* (ali ne *Flavobacterium*) promovisao je veći stepen redukcione aktivnosti ćelija algi pod oksigenisanim uslovima, što sugeriše da njihovo povezivanje za ćelije algi može imati fiziološke implikacije.

U slučaju cijanobakterija, epifitne bakterije izgleda da stoje u pozitivnoj ravnoteži sa njima, a ne u antagonizmu. Prisustvo velike populacije površinskih bakterija (i praživotinja) se često primećuje tokom perioda maksimuma rast algi (npr. tokom cvetanja algi), a nije uvod u lizu ili degradaciju algi. Interakcija između bakterija i cijanobakterija

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

podrazumeva složenu razmenu materija koje su važne kako za uspostavljanje (hemotaksija) i nastavak ishrane oba organizma. Ovaj simbiotski odnos karakterišu razne hemijske veze (slika 19), uključujući lučenje hemotaksičnih jedinjenja (atraktanti), fotosintata i proizvoda fiksiranja azota algama, kao i reciklaža ugljenika, neorganskih hranljivih materija, i metala u tragovima. Bakterije imaju visoku efikasnost unosa N i P pod uslovima ograničenja neorganskih hranljivih sastojaka i može obezbediti važan put za alge unos ovih nutrijenata od strane fototrofa. Pored ovih glavnih puteva prenosa hranljivih sastojaka, razmena faktora rasta kao što su vitamini, helatni agensi i sl. mogu se nalaziti druga nedefinisana jedinjenja u ovom mikrookolini.



Slika 19. Hemijske interakcije u fikosferi. Epifitne bakterije, u direktnom kontaktu ili bliskoj vezi sa ćelijama algi razmenjuju niz hranljivih sastojaka i metaboliti sa svojim fototrofnim partnerima. Oni takođe utiču na neposrednu mikrookolinu oko ćelije algi, povećavajući koncentraciju CO₂, ali smanjujući koncentraciju kiseonika, pH i redoks potencijal (E_h). Epifitne bakterije pod uticajem hemijskih promena (npr. hemotaksični agensi) u sopstvenoj mikrookolini (na osnovu Paerla, 1992)

Hemotaksički agensi. Rodovi cijanobakterija koje fiksiraju azot (*Anabaena*, *Aphanizomenon*) i koji ne fiksiraju (*Microcystis*, *Oscillatoria*) pri cvetanju izlučuju jedinjenja koja privlače heterotrofne bakterije. Hemotaksična privlačnost bakterija za heterociste (npr. za *Anabaena* i *Aphanizomenon*) je veoma visoko specifična i uključuje odgovor na azotna jedinjenja male molekularne težine (aminokiseline, peptidi), ali ne i šećere ili organske kiseline. Nasuprot tome, hemotaksični odgovor na kolonije koji ne sadrže heterociste bio je mnogo veći i uključivao je jednak odgovor na isti niz organskih supstanci.

5. Bakterije kao glavni heterotrofni mikroorganizmi u slatkovodnom ekosistemu

Fotosinteza i azotofiksacija. Izlučivanje fotosintetskih proizvoda ćelija cijanobakterija i unošenje rastvorenog organskog ugljenika u vodenu sredinu stimulira bakterije. U slučaju cijanobakterija / bakterija, DOC proizvode vegetativne ćelije algi, a asimiliraju ga bakterije u fikosferi. Proizvodi fiksiranja azota (aminokiseline i peptidi male molekulske težine) lako se asimiliraju od strane udruženih bakterijskih ćelija. Ovaj brzi prenos je dokazan primenom izotopa gasovitog azota ^{15}N i neaksenih kultura kolonija *Anabaena*. Rezultati su pokazali da:

- epifitne bakterije ne vrše fiksaciju N_2 same, ali preuzimaju $^{15}\text{N}_2$ u roku od 1 sata od fiksacija azota cijanobakterijama - ovo ukazuje na blisku metaboličku spregu između simbionata;
- usvajanje N_2 pod uticajem je metabolizma ugljenika. Kada su fotosintetski zahtevi *Anabaena* za usvajanje ugljenika ispunjeni, prenos $^{15}\text{N}_2$ do bakterija je minimalan, ali u uslovima limitiranih koncentracija spoljnog neorganskog ugljenika (CO_2 , HCO_3^-) prenos azotnih jedinjenja se izrazito povećava.

Povećan prenos fiksanog azota pod uslovima ograničenja ugljenika može predstavljati adaptivni mehanizam koji pospešuje veći rast i disanje bakterija. Ovo povećava bakterijsko disanje menjajući hemijski sastav fikosfere, povećavajući koncentraciju CO_2 i smanjujući koncentraciju O_2 , pH i redoks potencijal (Eh). Regeneracija ugljen-dioksida u fikosferi je posebno važna u uslovima cvetanja, gde su koncentracije kiseonika visoke, a ugljen-dioksid može biti ozbiljno ograničen. U ovoj situaciji, epifitna proizvodnja CO_2 smanjuje ograničenje ugljenika i omogućava nastavak fotosinteze. Regeneracija CO_2 , sa smanjenjem O_2 , takođe ima specifičniji značaj na površini heterocista, gde je održavanje niske koncentracije kiseonika u sredini neophodno za fiksaciju N_2 (enzim nitrogenaza koja fiksira azot osetljiva je na kiseonik).

6. VIRUSI U SLATKOVODNIM EKOSISTEMIMA

Virusi u slatkovodnim ekosistemima su najmanje proučeni mikroorganizmi, ali savremena istraživanja omogućavaju i njihovo proučavanje. Različite ekološke studije ukazuju na veliki značaj virusa u slatkovodnim ekosistemima, pre svega u planktonskim, a u manjoj meri i bentosnim. Saznanja iz oblasti marinske mikrobiologije upotpunjuju razumevanje značaja virusa i u slatkovodnim ekosistemima. Virusni su jedina grupa slatkovodnih mikroorganizama sa acelularnom građom i pripadaju femtoplanktonu. Većina virusa ima prečnik <70 nm, manji broj predstavnika je veći od 100 nm, a neki izuzeci imaju dužinu i preko 1 mm.

Virusi su potencijalno važni u planktonu i bentosu slatkovodnih ekosistema:

- Imaju značajan uticaj na rast i produktivnost glavne biomase, pre svega algi i bakterija kada se govori o drugim mikroorganizmima
- Oni uzrokuju smrt i lizu slatkovodnih mikroorganizama, oslobađanje rastvorenog organskog ugljenika (DOC), azota i fosfora u vodu. Virusni tako imaju značajan uticaj na ugljenik i protok hranljivih sastojaka u mikrobnim lancima ishrane.
- Iako se virusi javljaju kao diskretne čestice unutar vodenog medija, njihova mala veličina svrstava ih u „rastvorljivu“ organsku materiju (prečnik < 0,2 μm). Oni tako direktno doprinose DOC-u kao makromolekulski kompleksi koji sadrže proteine, nukleinske kiseline i lipide.
- Mogu da posreduju u genetičkoj razmeni između domaćina, promovišući protok gena u populacijama, pre svega bakterija i eukariotskih algi.

Virusi prisutni u slatkovodnim ekosistemima se mogu grubo podeliti na endogene, tj. autohtone viruse za koje je voda prirodno stanište i egzogene, tj. alohtone, koji su dospeli u vodeni ekosistem iz drugih sredina.

Endogeni virusi su paraziti slatkovodnih organizama i na taj način utiču na lance ishrane na svim nivoima. Unutar endogenih virusa, od posebnog značaja su: bakteriofagi - paraziti slatkovodnih bakterija, **cijanofagi** - virusi cijanobakterija i **fikovirusi** - virusi eukariotskih algi. Cijanofagima i bakteriofagima su domaćini prokarioti. Fagi imaju glavu (kapsid) i rep, za razliku od fikovirusi, a i neki fagi mogu imati jednostavniju morfologiju.

Cijanofagi i fikovirusi su paraziti autotrofnih domaćina, što važi i za bakteriofage koji inficiraju autotrofne bakterije, ali većina faga inficira heterotrofne bakterije. Pored ove tri grupe prisutni su i virusi gljivica i praživotinja, kao i virusi viših organizama (više biljke,

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

beskičmenjaci i ribe). Virusi riba, npr. oni koji inficiraju hematopoetska tkiva lososa i pastrmke, imaju izuzetan ekonomski značaj.

Egzogeni virusi se unose u vodene sredine iz spoljašnjih izvora, kao što je komunalna otpadna voda. Ovi virusi nisu prirodni deo slatkovodnih ekosistema i ne inficiraju prirodno slatkovodnu biotu. Primeri uključuju humane viruse (pre svega enterične - virus hepatitisa A, adenoviruse, noroviruse, astroviruse, rotaviruse i dr) ili viruse bakterija koji su obligatni humani patogeni, a koji mogu ući u vodene ekosisteme i sa bakterijama domaćinima. Ovo važi i za viruse enteričnih bakterija, tj. za kolifage koji se koriste kao virusni indikatori opšteg nivoa fekalne kontaminacije u prirodnim vodama. Studije F+ RNK kolifaga pokazale su da tipizacija ovih virusa može ukazati na izvor fekalne kontaminacije (humani i/ili animalni).

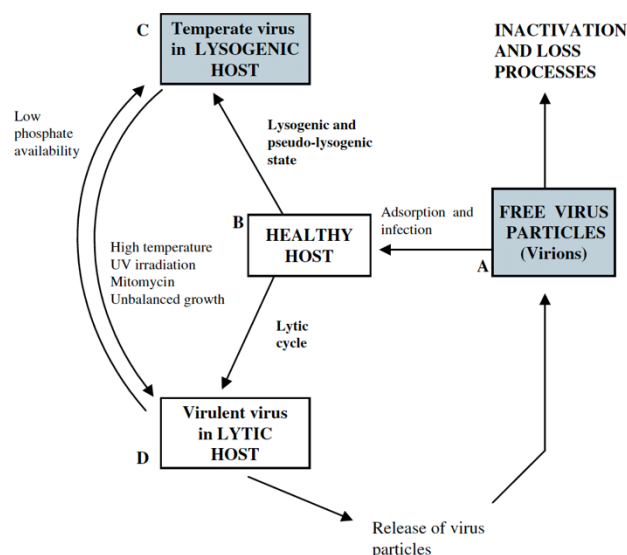
6.1. Ciklus umnožavanja virusa: slobodni i intracelularni virusni stadijum

Slobodni virusni stadijum podrazumeva prisustvo infektivnih virusnih čestica, tj. viriona u vodenom ekosistemu. Intracelularni stadijum predstavlja prisustvo/perzistenciju virusa u ćeliji (slika 1). Kada je brojnost domaćina visoka, obe ove forme virusa su prisutne u visokom stepenu, a njihova ravnoteža zavisi od niza faktora (metabolička aktivnost domaćina, infektivnost virusa, uslovi sredine itd).

Ekstracelularne forme virusa su važne za dalju infekciju domaćina, ali su takođe važne za opstanak organizma. U ovoj formi životnog ciklusa virusi su vrlo izloženi spoljašnjim faktorima koji ih deaktiviraju ili eliminišu. Infektivne čestice ili virioni su biološki inertni u svom slobodnom stanju i moraju da zaraze ćeliju domaćina kako bi se umnožavali. Virioni neprestano dolaze u kontakt sa potencijalnim domaćinima u vodenoj sredini, a do infekcije dolazi ako ćelija ima odgovarajuće receptore na površini. Nakon adsorpcije i infekcije ćelija domaćina, virusi preuzimaju mašineriju domaćina i sintetišu sopstvene nukleinske kiseline i proteine, proizvodeći virusne čestice koje ponovo dospevaju u spoljašnju sredinu lizom ćelije, pupljenjem ili ekstruzijom. Neki virusi uzrokuju obaveznu (obligatnu) lizu ćelije, pa se nazivaju **obligatno litički**, a njihov ciklus umnožavanja se zove **litički ciklus**. Nukleinska kiselina nekih faga može da perzistira u ćeliji domaćina (ekstrahromozomski ili se integriše u genom domaćina), pa se takvi fagi nazivaju **umereni**. Ovaj ciklus se označava kao **lizogeni**, a pod određenim uslovima on može preći u litički. Prelazak iz lizogenog na litički ciklus naziva se indukcija, a dešava se delovanjem različitih faktora, kao što su visoka temperatura, UV zračenje, antibiotici i drugi faktori koji ometaju rast ćelija. Interesantan je primer endosimbiotske alge *Chlorella*, koja živi u zajednici sa dupljarom *Hydra viridis*; kada se hlorela izoluje iz hidre aktiviraju se umereni fikovirusi što uzrokuje smrt ćelije i produkciju virusa.

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

U kojoj meri su različiti vodeni virusi umereni ili virulentni zavisi od samog virusa, ali i od domaćina i uslova sredine. Većina poznatih cijanofaga je obligatno litičko, dok je većina bakteriofaga umereno. Ovo je verovatno povezano sa metaboličkom aktivnošću, jer su cijanobakterije aktivne tokom kasnog proleća, leta i rane jeseni u umerenim oblastima, a heterotrofne bakterije su veći deo vremena metabolički inertne. Kod njih lizogeni ciklus omogućava perzistenciju virusa do pojave povoljnih uslova za umnožavanje bakterije. Ravnoteža litičkog i lizogenog ciklusa je važna u smislu rasta i produktivnosti populacije domaćina, ali i za horizontalni transfer genetičkog materijala između ćelija domaćina. Ovo je posebno izraženo kod bakterija, kod kojih fagi putem transdukcije prenose delove hromozomske ili plazmidne DNK. Npr. polovina, ako ne i sve bakterije vrste *Pseudomonas aeruginosa* koje nastanjuju slatkovodne ekosisteme su lizogene i fagi značajno doprinose razmeni genetičkog materijala među ovim bakterijama, a time i adaptaciji na različite uslove sredine.



Slika 1. Odnosi između slobodnih i unutarćelijskih virusa u slatkoj vodi: proizvodnja ciklus za obligatno litičke viruse (A-B-D) prati drugačiji put od umerenog virusi (A-B-C-D); dugoročno preživljavanje virusa se odvija u fazama A i C (osenčena polja)

6.2. Detekcija virusa

Virusi se mogu detektovati kao slobodne čestice ili intracelularno. Pre određivanja broja virusnih čestica u nekom uzorku obično se vrši centrifugiranje i/ili filtriranje uzorka, kako bi se uklonili krupniji mikroorganizmi. Virusi se mogu i koncentrovati pomoću polietilen glikola visoke molekulske mase. Broj viriona se izražava kao broj partikula, ili broj jedinica koje formiraju plake (PFU – plaque forming units) u određenoj zapremini, zavisno od primenjene metode.

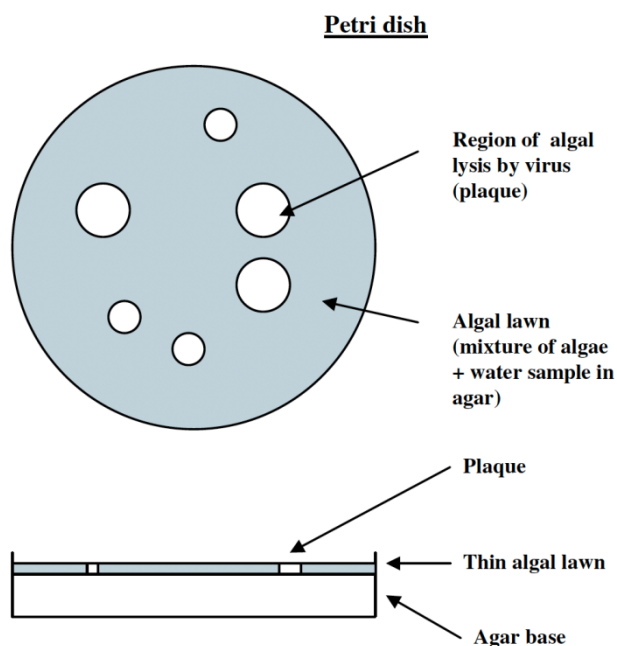
6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

Broj viriona se može odrediti na sledeće načine:

- **Direktne metode (ukupan broj viriona):** Ove metode omogućavaju morfološku karakterizaciju i prebrojavanje viriona upotrebom elektronskog mikroskopa, obično u negativno kontrastiranim preparatima. Ove metode se obično primenjuju nakon koncentrovanja virusa ultracentrifugiranjem i relativno se retko koriste. Glavni nedostatak primene TEM je što se ne mogu razlikovati infektivni od neinfektivnih viriona. Ovom metodom moguće je detektovati i prisustvo viriona u ćeliji, koji se još uvek nisu oslobodili, a vide se u ćeliji kao gušće (tamnije) strukture, uniformne veličine, prisutne u određenim delovima ćelije i sa veličinom koja odgovara virusima. Pri određivanju brojnosti za ove strukture se koristi termin „virusu slične partikule“ (VLP, virus like particles), kako bi se napravila razlika u odnosu na slobodne virione. Pogodniji metoda je primena epifluorescentnog svetlosnog mikroskopa, uz bojenje viriona specifičnim fluorescentnim bojama kao što su DAPI i SYBR-Green. Ova metoda je ipak pogodna samo za viruse sa dvolančanom DNK. Direktnim metodama utvrđeno je da je broj viriona u morskoj vodi 106-107/mL.
- **Rastvorena DNK kao indeks koncentracije virusa:** Istraživanja su pokazala da samo mali deo rastvorene DNK u vodenim staništima pripada virusnoj DNK, manje od 5%. Za primenu ove metode virusna nukleinska kiselina se mora osloboditi kapsida, kako bi postala dostupna za fluorescentne boje. Metoda je složena, a pri tome nije pouzdana i ima smisla primenjivati je samo kada se radi sa čistom suspenzijom virusa.
- **Brojnost vijabilnih virusa:** Filtrat nekog uzorka iz prirodne sredine može se dodati u kulturu domaćina, a to će u slučaju prisustva specifičnih domaćina rezultirati lizom. Liza se može primetiti u tečnim kulturama, a za kvantifikaciju virusa koriste se čvrste hranljive podloge sa konfluentnim bakterijskim rastom (rast u vidu „tepiha“). Na ovaj način se može odrediti brojnost virusa bakterija, algi koje rastu na čvrstim podlogama i jednoćelijskih gljiva, a za ovu svrhu se primenjuje jedan sloj (single layer) ili dva sloja agara (double layer). Prva metoda podrazumeva inokulaciju domaćina i uzorka sa virusima u polutečnu podlogu, dok je agar još u tečnom stanju, a sadržaj se onda sipa u petrijevu ploču. Druga metoda podrazumeva da je podloga već razlivena u petrijevu ploču, pa se inokulum u polutečnoj podlozi razliva preko nje. Ako se upotrebi odgovarajuće razređenje uzorka moguće je dobiti pojedinačne plake, tj. mesta lize na konfluentnom rastu domaćina, a svaki plak nastaje od jednog viriona iz uzorka (slika 2). Nakon inkubacije se prebroje plake i izračuna se PFU/mL. Priprema uzorka, tj. centrifugiranje i/ili filtriranje, ili tretman hloroformom, je od posebne važnosti, kako bi se izbeglo zagađenje kulture bakterijama koje su prisutne u uzorku, a pre svega pripadnika rodova *Bdellovibrio*, *Myxococcus* i sl, koje takođe mogu formirati plake. Ova metoda omogućava i izolaciju virusa, a u nekim slučajevima, kada je brojnost viriona za izolaciju veoma mala, može se primeniti i obogaćenje. U tu svrhu se uzorak inkubira sa domaćinom obično u tečnim podlogama, a tokom inkubacije brojnost viriona se

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

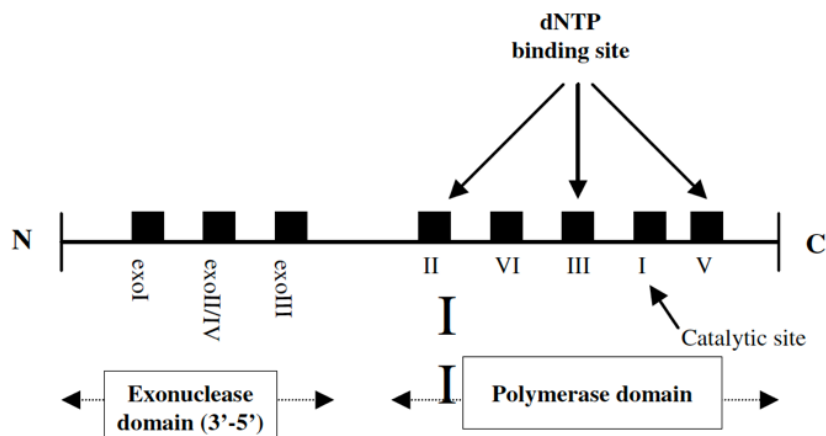
značajno povećava, što će olakšati izolaciju virusa. Na ovaj način može se odrediti brojnost samo infektivnih viriona i to samo za jednu vrstu ili soj.



Slika 2. Prikaz metode određivanja brojnosti vodenih virusa pomoću konfluentnog rasta bakterija. Gornji dijagram i bočni prikaz petrijeve ploče sa inokulisanim virusom, a nakon inkubacije uočavaju se virusne plake. Svaki plak nastao je iz pojedinačne infekcije bakterija sa virusom iz uzorka. Različite veličine plaka posledica su infekcije različitim virusima koji mogu da inficiraju bakteriju domaćina. Bakteriofagi se mogu izolovati iz pojedinačnih plaka za dalju karakterizaciju

PCR detekcija virusa: Virusi se mogu detektovati primenom specifičnih PCR početnica (prajmera) (Slika 3). Metoda podrazumeva izolaciju nukleinskih kiselina i primenu polimeraze, koja koristi prajmere da umnoži odgovarajuće delove DNK. U slučaju RNK virusa mora se izvršiti prvo reverzna transkripcija, da se RNK prevede u dsDNK. Obično prajmeri targetiraju gen za DNK polimerazu ili RNK zavisnu RNK polimerazu, egzonukleaze i druge gene sa konzervisanim domenima. Zbog visoke specifičnosti prajmera i pojave mutacija nije moguće precizno odrediti prisustvo svih virusa u uzorku. Ako se primeni RT-PCR (real time PCR), moguće je izvršiti semikvantifikaciju ili kvantifikaciju virusa.

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima



Slika 3. Ciljna sekvenca nukleotida za fikovirus za PCR prajmer: generička mapa DNK polimeraze B ima konzervirane motive (crni kvadrati) i njihove moguće funkcije. najkonzervativnija aminokiselinska sekvenca (I) je katalitičko mjesto; dNTP - deoksinukleotid trifosfat (na osnova Čena i Suttlea, 1995)

Produktivnost u vodenim ekosistemima za jedan virus može se posmatrati kao neto i bruto prinos.

Neto prinos = bruto prinos - procesi gubitka

Bruto prinos - sinteza virusne biomase u ćeliji domaćina

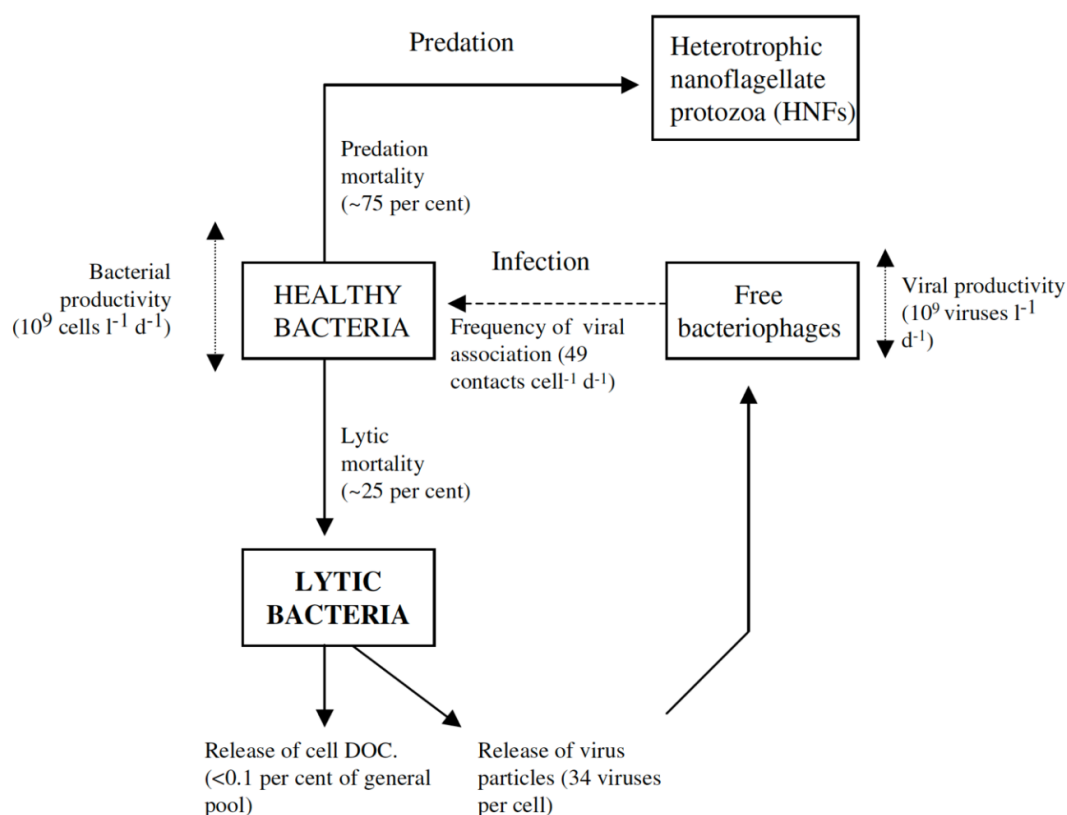
Procesi gubitka - interne aktivnosti koje smanjuju ili usporavaju oslobađanje virusa

Neto produktivnost predstavlja stopu povećanja biomase infektivnih viriona u vodenoj masi. Postojanje ekstracelularne forme u vodenoj masi i intracelularne forme virusa u ćelijama otežava precizno određivanje ovog parametra, kao i činjenica da se oslobođeni virusi vezuju za nove ćelije i prelaze u intracelularnu formu.

Produkcija virusne biomase u ćeliji domaćina (bruto produkcija) zavisi od parametara ciklusa infekcije, kao i ćelije domaćina da proizvodi virusne makromolekule. Unutrašnji gubici podrazumevaju procese kojim se gube virusni makromolekuli ili se usporava njihova sinteza, ali nisu istovetni sa spoljašnjim faktorima koji štetno deluju na replikaciju virusa. Neto prinos se odnosi na brojnost viriona koji se formiraju, a izražava se kao broj viriona u nekoj zapremini, najčešće u litru vode. Neto produktivnost se može odrediti množenjem stope lize ćelije domaćina i brojem viriona po jednoj ćeliji po jednom ciklusu. Izračunato je da se u jednom eutrofnom jezeru, u epilimnionu, po jednoj bakterijskoj ćeliji oslobađa 34 viriona, a ukupna produktivnost virusa je 109 viriona/L. Iz liziranih ćelija se oslobađa sadržaj, ali je količina oslobođenih materija veoma mala i povećava DOC za <0.1% (slika 4). U dubljim slojevima (hipolimnionu) oslobađa se 63 viriona po ćeliji, pa je produktivnost veća, oko 1010 viriona/L. Produktivnost virusa se može određivati i posredstvom frakcije ćelija inficiranih virusima, radioaktivnog fosfora i sl, ali za sada ne

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

postoji jedinstvena, standardna metoda. Produktivnost virusa može značajno da varira u kratkom vremenskom intervalu, što zavisi od dostupnosti domaćina, što podrazumeva i diurnalne (dnevno-noćne) varijacije, ali je stabilna u dužem vremenskom periodu.



Slika 4. Produkcija virusa i bakterija u epilimnionu eutrofnog jezera Plußsee, severna Nemačka. Vrednosti za litički i predatorski mortalitet bakterija izražen je kao procenat proizvodnje bakterija i veoma je promenljiv; protok ugljenika (strelice) (na osnovu Veinbauera i Hořflea, 1998)

Na osnovu dugoročnog uzorkovanja (dnevni intervali), neto promene u prinosu virusa imaju tendenciju da se menjaju (povećanje ili smanjenje) brzinom od oko 0,9 virusnih jedinice po danu, bez obzira da li su podaci dobijeni kao ukupan broj, broj vijabilnih viriona ili kao stopa ugradnje ^{32}P -obeleženg ortofosfata u virusnu DNK. Mnogo veće stope (do 9 virusnih jedinica po danu) u promeni virusne abundancije primećene su kada su se intervali uzorkovanja sveli na 1-2 sata, sa još većim vrednostima u kraćim vremenskim intervalima. Ovi podaci sugerišu da se virusna produktivnost može značajno razlikovati u kratkom roku, ali je dugoročno postojana. Dugoročne stope promene brojnosti virusa u opsegu 0,5–1 virusna jedinica na dan rezultat su promena mikrobne aktivnosti u vodi (promena stope rasta bakterija, ispaše, stope prometa nutrijenata itd).

6.3. Regulacija virusne abundance

Virusna abundanca zavisi od produkcije viriona i njihovog preživljavanja u spoljašnjoj sredini, a može biti rezultat litičke infekcije ili aktiviranja profaga iz lizogenog u litički ciklus. Kvantitativni aspekti infekcije i oslobađanja virusa razmatrani su posebno u vezi sa bakteriofagima. Stopa virusne infekcije zavisi od stope adsorpcije ($dP = dt$), koja je proporcionalna koncentraciji ćelija domaćina (H) i čestica virusa (P), kao što je prikazano u jednačini:

$$dP/dt = kPH$$

gde je k konstanta brzine adsorpcije. U slučaju bakteriofaga, eksperimentalne i teorijske (teorija difuzije i sudara) analize daju vrednost $k = 0,25 \times 10^{-8} \text{ cm}^3/\text{min}$.

Virusna adsorpcija i infekcija se javljaju samo unutar određenih kombinacija domaćin / parazit, pa vrednosti P i H odnose se na populacije unutar tih kombinacija. Približne vrednosti za dinamiku infektivnosti faga se mogu izračunati za različite brojeve kombinacija domaćina / parazita u određenim planktonskim zajednicama na sledeći način: Ako pretpostavimo da je abundanca bakterija i faga u određenoj zajednici planktona, na primer 10^6 , odnosno $10^7/\text{ml}$; ako ima 100 različitih sistema fag-domaćin, svaki sadrži 1% od dva seta organizama, onda koristeći jednačinu za sistem sa jednim fagom i domaćinom imamo:

$$dP/dt = 0,25 \times 10^{-8} \times 10^5 \times 10^4 = 2,5$$

Stopa adsorpcije faga za pojedinačni sistem bi bila 2,5 /min/ml ili $3,6 \times 10^3$ /ml na dan. Ukupna stopa adsorpcije za sve sisteme fag-domaćin bi tako bila $0,36 \times 10^6$ /danu/ml (Tabela 1).

Sa ukupnim brojem bakterija od 10^6 ćelija/ml, ova stopa ukupne adsorpcije znači da oko trećina bakterijske populacija može doživeti „napad“ od faga svakog dana. Sa 50 oslobođenih viriona po ćeliji, virusna produktivnost bi bila $1,8 \times 10^7$ virusa/ml na dan. Realnija vrednost broja različitih sistema fag-domaćin bila bi oko 105. Ovo se zasniva na broju PFU pojedinih bakterijskih vrsta u prirodnim vodama od 1–100/ml, sa otprilike 100 viriona/ml za svaki sistem. Uporedne vrednosti adsorpcije faga za 10^5 i 10^2 sistema fag-domaćin unutar istog ukupnog broja bakterijske i virusne populacije prikazane su u tabeli 1.

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

Tabela 28 Izračunavanje stepena virusne adsorpcije za različite sisteme fag-domaćin u planktonskoj zajednici (po Bradbak i sar, 1994)

Broj sistema fag-domaćin	Brojnost po sistemu (po mL)		Stepen adsorpcije (po danu po mL)	
	Bakterije	Fagi	Po sistemu	Celokupna bakterijska populacija
10^2	10^4	10^5	$0.36 \times 10_4$	$0.36 \times 10_6$
10^5	10	10^2	0.36×10^{-4}	0.36×10^3

Proračuni pokazuju da planktonske zajednice sa velikom raznolikošću vrsta domaćina (sa većim brojem sistema fag-domaćin) imaju niži ukupni nivo adsorpcije i infekcije. U toku cvetanja, kada je raznolikost mala, ukupna incidenca infekcije virusima je znatno veća.

Mnogi virusi su umereni i većina faga spada u ovu grupu (i do 90%). Dakle, ovi fagi nakon infekcije ne liziraju ćelije, već perzistiraju u njima. Ovi virusi se mogu aktivirati (indukovati) delovanjem određenih faktora (UV, hemijski agensi, temperaturni šok i sl) i preći u litički ciklus. U populacijama ćelija koje su lizogene uvek dolazi do spontanog oslobađanja viriona iz nekih ćelija, ali je ravnoteža usmerena ka lizogenom ciklusu.

Stabilnost suspendovanih čestica virusa (viriona) je važan aspekt biologije slatkovodnih organizama, koji su veći deo njihovog životnog ciklusa u inertnom (neparazitnom) stanju. Stabilnost je posebno važna kada su populacije domaćina na niskom nivou i slobodne čestice virusa moraju da prežive tokom ovog perioda. Ako su virusne čestice nestabilne u prirodnim vodama vreme obrta će biti kratko i za održavanje će biti potrebna visoka stopa proizvodnje velike količine čestica. Sa povećanjem stabilnosti čestica, niže stope produktivnosti su potrebne za održavanje određene brojnosti viriona. Studije o virusnoj stabilnosti, inaktivaciji i propadanju su sprovedene uglavnom u marinskim ekosistemima, ali se rezultati mogu primeniti i na slatkovodne ekosisteme. Stabilnost virusa podrazumeva infektivnost viriona ili integritet čestica (tj. korišćenje održivog ili ukupnog broja).

Pokazalo se da razni faktori životne sredine utiču na virusnu stabilnost:

Biološka aktivnost. Deaktivacija virusa je veća u sirovoj vodi u poređenju sa vodom koja je imala uklonjene druge biote (filtracijom, centrifugiranjem) ili inaktivirane (autoklaviranje, tretman antibioticima). Uloga biote u inaktivaciji ili uklanjanju suspendovanih čestica virusa je složen i verovatno uključuje procese adsorpcije, sekrecije vanćelijskih hidrolitičkih enzima (nukleaza i peptidaza) i ingestiju tokom filtriranja vode od strane organizama koji se hrane na ovaj način.

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

Hemijski sastav. Virucidna svojstva priobalne morske vode pripisana je njihovom hemijskom sastavu i posebno njihovom sadržaju metala u tragovima. Reverzibilna adsorpcija za čestice izgleda da štiti viruse od virucidnog efekta morske vode. Jonski sastav vode takođe može biti važan. Fagi imaju zahtev za dvovalentnim katjonima (posebno Mg²⁺), bez kojih se repovi faga odvajaju od glave.

Fizički parametri. Sunčeva svetlost ima značajan efekat na virusnu stabilnost, povećavajući stopu inaktivacija bakteriofaga za 10–100 puta na sunčevoj svetlosti u poređenju sa mrakom. Temperatura vode ima promenljiv efekat, sa temperaturama ispod 20°C bez uticaja na egzogene kolifage T2 i T7, ali sa smanjenim propadanjem u opsegu od 20°C do 5°C u slučaju endogenih faga.

Propadanje virusa može jednostavno uključivati raspadanje virusne čestice, sa oslobađanjem nukleinske kiseline iz proteinskih kapsida. Dobijene čestice neće biti sposobne za infekciju domaćina. Ima malo informacija o stopi inaktivacije virusa u slatkovodnim sistemima, ali vrednosti za morsku vodu su obično oko 0,1–2 virusne jedinice po danu.

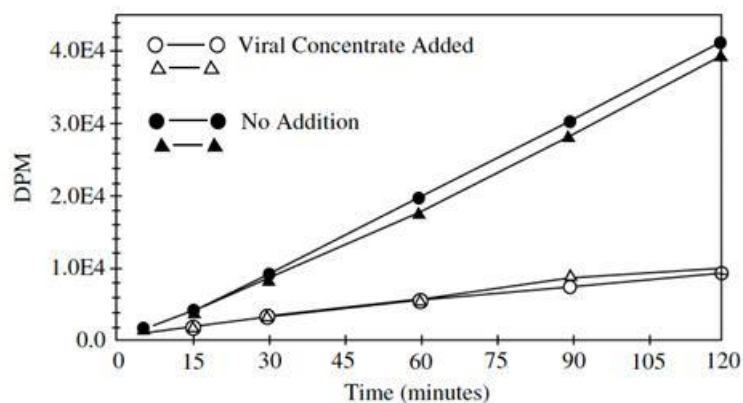
6.4. Uloga virusa u lancima ishrane

U planktonskom okruženju virusi imaju značajan uticaj na dva glavna domaćina - fitoplankton i bakterije. U početku infekcije virusi inhibiraju sintetske aktivnosti domaćina, a proces se završava lizom ćelije. Virusna infekcija tako može dovesti do značajnog smanjenja i primarnih (fitoplanktona) i sekundarnih (bakterijske) producenata.

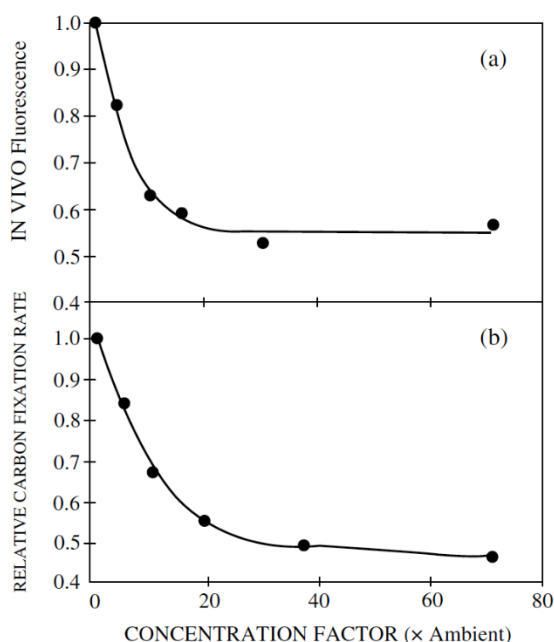
6.4.1. Metabolički efekti virusa: smanjenje primarne produktivnosti algi

Uništavanje populacija fitoplanktona cijanofagima i fikovirusima dovodi do srazmernog smanjenje ukupnog nivoa fotosinteze i smanjenja primarne produktivnosti (slika 5). Fotosinteza je takođe inhibiran tokom procesa infekcije pre lize ćelije. Npr. kod cijanobakterija nakon infekcije brzina inhibicije fotosinteze zavisi od samog virusa. Inhibicija fotosinteze može biti u nekim slučajevima oko 80%, a nekada samo 1-4%, što zavisi od osetljivosti producenata na infekciju virusom (slika 6).

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima



Slika 5. Vremenski tok inhibicije fotosinteze vodenim virusima: vremenski tok unosa ^{14}C -bikarbonata u fitoplankton u prirodnoj morskoj vodi u koju je virusna suspenzija dodata (donji grafikon) ili nije (gornji grafikon) (prema Suttle, 1992)

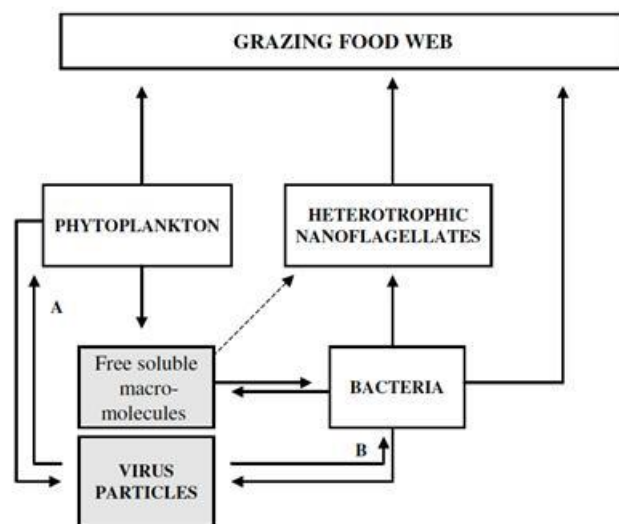


Slika 6. Uništavanje hlorofila i inhibicija fotosinteze u morskom fitoplanktonu dodatkom virusa: smanjenje fluorescencije hlorofila (a) i stopa fiksiranja ugljenika (b) prikazani su za opseg koncentracija virusa (0–80 ambijentalnih) 8 sati nakon dodavanja virusa (preuzeto iz Suttle, 1992)

Kada je brojnost bakterija i algi visoka (cvetanje), prisustvo virusa koji inficira dominantni mikroorganizam rezultiraće visokim stepenom adsorpcije i značajnom redukcijom brojnosti domaćina; prisustva malog broja vrsta rezultira visokim kumulativnim nivoom smrti na nivou populacije. U tom smislu se cijanofagi i fikovirusi mogu koristiti za biokontrolu cvetanja vodenih ekosistema. Važno je spomenuti i kompeticiju virusa sa drugim parazitima; npr. fagi su u kompeticiji za domaćina sa protozoama koje se hrane bakterijama.

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

Fitoplankton učestvuje u produkciji DOC, koji zatim koriste drugi mikroorganizmi. Efekat virusa na ove mikrobne lance ishrane zavisi od domaćina i vremenskog okvira u kome se dešava infekcija (slika 7) jer: (1) cijanofagi i fikovirusi inicijalno nakon infekcije povećavaju DOC lizom ćelije, ali dugoročno smanjuju DOC zbog redukcije fotosinteze i uništavanja fotosintetskih mikroorganizama; (2) redukcija brojnosti bakterija preko bakteriofaga dovodi do smanjenja gubitka DOC, a protozoe koje mogu koristiti DOC samo će delimično kompenzovati ove promene. Ovo je posebno izraženo kada jedan mikroorganizam dominira, a mikrobne sukcesije sprečavaju dugoročne efekte koje uzrokuju virusi. Virusi ne utiču samo na DOC u vodenim ekosistemima, već i na neorganske nutrijente. Tako se nakon lize ćelija virusima povećava koncentracija jedinjenja azota i fosfora u vodenoj sredini, što dalje doprinosi povećanoj primarnoj i sekundarnoj produkciji.

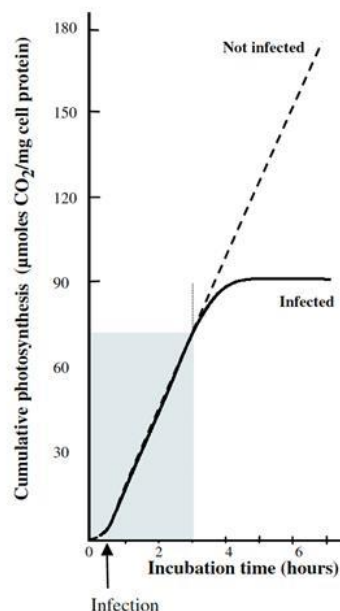


Slika 7. Virusi i pelagična mikrobna trofička mreža. Strelice pokazuju smer kretanja ugljenika. Virusna infekcija algi (A) i bakterija (B) rezultira konverzijom biomase ćelije domaćina da oslobodi rastvorljive makromolekule i čestice virusa. Oba, oslobođeni lizom ćelije domaćina, doprinose rastvorenom organskom ugljeniku (DOC) u vodenoj sredini (osenčeni delovi). Porast populacije heterotrofni nanoflagelati (HNF) zavisi od dostupnosti bakterija. Produktivnost fitoplanktona, HNF i bakterija određuju protok ugljenika u zooplanktonu i celu mrežu ispaše. Dugoročno gledano efekat virusne infekcije je smanjenje protoka ugljenika u mikrobnoj trofičkoj mreži.

Virusi cijanobakterija i bakteriofagi se ne razlikuju značajno, s obzirom na to da inficiraju prokariote. Najpoznatiji su fagi sa dugim kontraktilnim repom (miovirusi), a sa dugim, nekontraktilnim, fleksibilnim repom (sifovirusi; familija *Siphoviridae*) i fagi sa kratkim repom (podovirusi, familija *Podoviridae*). Svi navedeni predstavnici imaju dsDNK i pripadaju fagima sa repom (red *Caudovirales*). Jedna od najpoznatijih grupa cijanofaga su LPP virusi, koji parazitira na rodovima *Lyngbya*, *Phormidium* i *Plectonema*. Mađu virusima cijanobakterija otkriveno je jako puno vrsta koji inficiraju predstavnike roda

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

Synechococcus. Kako se cijanobakterije relativno sporo umnožavaju, LPP cijanofagi imaju duži latentni period, oko 6 časova, a ceo proces multiplikacije traje 13-15 časova (kod bakteriofaga traje 20-30 min). Nakon infekcije, LPP virusi zaustavljaju proces fotosinteze nakon 3 časa (slika 8).



Slika 8. LPP infekcija cijanofaga i ćelija domaćina. Prikazana je kumulativna stopa fotosinteze inficirane (puna linija) i neinficirane (isprekidana linija) kulture *Plectonema*. Fotosinteza se meri kao asimilacija CO₂, utvrđeno ugrađivanjem NaH₁₄CO₃ u ćelije. Otpriblike 3 sata nakon virusne infekcije nema efekta na stopu fotosinteze (osenčeni deo) (na osnovu Padan i Shilo, 1973)

Virusi algi su svrstani u nekoliko familija:

- *Phycodnaviridae* sa dsDNK i ikozaedarnom simetrijom T=169d, a interesantno je da imaju lipidni omotač ispod kapsida, što nije uobičajeno za viruse; pripadnici roda *Coccolithovirus* imaju i pravi spoljašnji omotač; inficiraju različite alge (*Ectocarpus*, *Chlorella* itd).
- *Bacilladnaviridae* (ssDNK sa delimično dvolančanom, ikozaedarni), koji parazitiraju na dijatomejama roda *Chaetoceros*
- *Alvernaviridae* sa +ssRNK, ikozaedarni (T=3), koji inficiraju dinoflagelate (*Heterocapsa* sp.);
- *Marnaviridae* sa +ssRNK, ikozaedarni (T=3), koji inficiraju alge roda *Heterosigma* sp.

Cijanofagi i fikovirusi su široko rasprostranjeni i utiču na lance ishrane. Brojnost fikovirusa je veoma visoka u vodenim ekosistemima; npr. virusa koji inficiraju *Chlorella* ima oko 10⁷ PFU/mL, a za *Micromonas* 10⁶ PFU/mL. Primećeno je da prilikom cvetanja alge *Emiliana*

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

huxleyi u priobalnom području Norveške, dolazi do lize alge usled infekcije fikovirusima, a ovo je dokazano i eksperimentalno u mezokosmosu. Slično je utvrđeno i za *Aureococcus anophagefferens* na obalama USA, koji pri cvetanju boji vodu u mrku boju.

Kontrola fitoplanktona od strane bakterija ima značaj za trofičke mreže, jer utiče na pašu, populaciju zooplanktona i ribe. Prisustvo ovih virusa utiče i na diverzitet ekosistema, jer specifično inficira određene vrste.

6.4.2. Bakteriofagi u ekosistemima

Za bakteriofage i bakterije u slatkovodnim ekosistemima važi sledeće:

- bakterije se u velikoj meri inficiraju fagima u slatkovodnim ekosistemima;
 - u nekim situacijama se prvenstveno brojnost bakterija kontroliše virusima, a ne ispašom od strane viših organizama;
 - sastav vrsta bakterijskih zajednica je delimično kontrolisana razlikama u osetljivosti na fage
 - bakteriofagi igraju glavnu ulogu u prenosu gena u populaciji bakterija posredstvom transdukcije, utičući na varijabilnost bakterija
 - interakcije bakterija od strane faga su pod uticajem fizičkih uslova u vodenoj sredini, uključujući nivo ultraljubičastog zračenja.

Brojnost faga varira npr. u jezerskoj vodi i u zoni slobodne vode u 1mL ima 10-1000 viriona, a na dnu taj broj ide i do 10^7 - 10^8 . Dva su razloga za to: (1) egzogeni razlozi – fagi adsorbuju za detritus koji pada na dno i (2) endogeni – brojnost domaćina veća je na dnu nego u zoni slobodne vode. U morskim ekosistemima brojnost faga u vodi se kreće od 1 do 100.000 PFU/mL, a broj kolifaga u otpadnim vodama može biti i nekoliko stotina miliona. Brojnost viriona u morskoj vodi je i do 10.000 puta veći od brojnosti bakterija u 1 mL, a u slatkovodnim ekosistemima, tj. u eutrofnim jezerima oko 100 puta. Elektronskom mikroskopijom je pokazano da je brojnost virusnih partikula u vodi veća od brojnosti bakterija i to za oko 50x. Zato je oko 1/3 bakterijskih ćelija izloženo „napadu“ virusa svakog dana. Elektronska mikroskopija pokazuje da 2-40% bakterija u marinskim ekosistemima sadrži partikule koje odgovaraju virusima, pa je procenat inficiranih bakterija i veći, kada se u obzir uzmu umereni fagi. U slatkovodnim ekosistemima ovaj procenat je manji, od 2 do 6%.

Razlika između obligatno litičkih i umerenih faga uzrokuje dva moguća ishoda u ekosistemima gde se bakteriofagi javljaju u prisustvu populacija bakterija koje se aktivno umnožavaju. Rast brojnosti obavezno litičkih faga dovodi do uništavanja bakterijskih ćelija, što utiče na opstanak određene vrste ili soja. Infekcija umerenim fagima dovodi do lizogenog stanja, u kojem bakterije ostaju vijabilne. Ova kohabitacija bakterija i faga je važna za dugoročno preživljavanje virusa, ali i bakterija. Ovo je posebno važno u uslovima

6. Virusi u slatkovodnim ekosistemima

sa malo hranljivih sastojaka - gde je populacija bakterija mala (što rezultira smanjenom šansom za infekciju) i gde je relativno malo bakterija u aktivnom metaboličkom stanju. U prirodi se javlja i lizogena i litička infekcija unutar zaražene populacije bakterija. Ravnoteža između umerenog i litičkog stanja utiče na produktivnost i populacije bakterije (incidenca smrtnosti) i populacije virusa (stvaranje novih čestica faga). Kada je visoka proporcija lizogenih bakterija u populaciji, različiti spoljašnji faktori (povišena temperatura, UV zračenje i sl) mogu da uzrokuju prelaz u litički ciklus, što značajno povećava mortalitet bakterija. Aktivacija lizogena je glavni izvor viriona u vodenim ekosistemima; tako je brojnost faga za *P. aeruginosa* u ovim ekosistemima 100-1000/mL.

7. AKVATIČNA BIOTA SA MICELIJALNOM FORMOM RASTA

Gljivama i gljivama sličnim organizmima nedostaje hlorofil i imaju glavnu saprotrofnu ulogu u vodenoj sredini, gde su važni razlagači i biljnog i životinjskog detritusa. Razlaganje biomase od strane ovih organizama je važno u regeneraciji rastvorljivih materija i igra značajnu ulogu u ciklusima kruženja ugljenika, azota, i fosfora u jezerima, rekama i drugim slatkovodnim staništima. Kao heterotrofni organizmi, gljive su ključna komponenta mnogih vodenih trofičkih mreža i u direktnoj su konkurenciji za organsku materiju sa bakterijama i praživotinjama. Svaka od ovih grupa usvojila je određenu strategiju koja podržava njihovu saprotrofnu egzistenciju, koja u slučaju gljiva uključuje razvoj razgranatih nitastih oblika rasta – micelije.

Gljive su tradicionalno posmatrane kao široka grupa organizama kod kojih je micelijalna forma rasta združena sa heterotrofnim načinom ishrane. Međutim sličan način preživljavanja imaju i prokariotske aktinomicete čije je vegetativno telo micelija. Ovo poglavlje razmatra obe ove grupe organizama: njihovu taksonomsku i trofičku raznolikost kao i njihovu ekološku ulogu u vodenim ekosistemima.

7.1. Aktinomicete – micelijalni prokarioti

Među organizmima koji imaju gotovo identičnu koncepciju građe kao i gljive su aktinomicete (filamentozne aktinobakterije ili zrakaste bakterije). Njihovo vegetativno telo, micelija, sačinjeno je od cevastih hifa prokariotske građe sa ćelijskim zidom. Neseptirane su i znatno manjeg dijametra u odnosu na hife gljiva. Kada se hranljive materije u okolini utroše to je signal da micelija formira hife van supstrata koje se diferenciraju u spore što im omogućava preživljavanje i rasprostiranje.

Aktinomicete su primarno zemljišni mikroorganizmi, a svega nekoliko naseljava vodenu sredinu. Uloga aktinomiceta u vodenim ekosistemima nije dobro poznata zbog problema prilikom njihove izolacije iz vodenih sredina. Veoma retko se koriste specijalne hranljive podloge za izolaciju i određivanje brojnosti aktinomiceta u vodi. Njihove kolonije u laboratorijskim uslovima sporo rastu. Kod klasičnih odgajivačkih metoda prilikom rasta u petri posudama gljive i bakterije prerastu hranljivu podlogu pre nego što aktinomicete oforme vidljivu koloniju. Sve ovo je rezultovalo skromnim saznanjima o prisutnosti, brojnosti i ulozi aktinomiceta u slatkovodnim sredinama.

7.1.1. Stanište

Veliki broj aktinomiceta se može izolovati iz vodenih staništa kao što su dno reka i jezera. Međutim, najveći broj aktinomiceta u ovim sredinama koje su bogate organskim materijama opstaje u vidu spora (mirujući stadijum). Autohtonost aktinomiceta u vodnim telima se utvrđuje dokazivanjem njihovog aktivnog rasta. Organski ostaci u litoralnom delu jezera predstavljaju mesta odakle se može izolovati veliki broj aktinomiceta koje rastu na otpalom lišću. Kada su u pitanju reke i jezera aktinomicete su zastupljene na i u blizini podvodnih makrofita, u peni i aerosolu koji se stvaraju na površini vode. Aktinomicete su često uzrok formiranja površinske pene u različitim vodenim sredinama, računajući tu i uređaje za prečišćavanje otpadnih voda. Ova grupa prokariota izolovana je i iz podzemnih voda gde najverovatnije opstaju kao komensali zajedno sa organizmima koji tolerišu sredinu sa niskom koncentracijom nutrijenata.

7.1.2. Ishrana

Vodene aktinomicete uglavnom su saprotrofi koji žive na račun razgradnje odumrlog organskog materijala biološkog porekla u jezerima i rečnim sedimentima. Shodno tome one su važne u procesu kruženja ugljenika i drugih neorganskih nutrijenata u vodenim ekosistemima. Pojedini predstavnici luče hidrolitičke enzime kojim razgrađuju celulozu, pentozane, hitin i ostale teško razgradive organske materijale. Istraživanja su pokazala da se razgradnja materijala biljnog i životinjskog porekla prvenstveno odvija aktivnošću gljiva za koje se smatra da su primarni kolonizatori. Za aktinomicete se smatra da su sekundarni kolonizatori odnosno da se pojavljuju kao deo mikrobiološke zajednice tek u kasnijim fazama mikrobiološke razgradnje.

Na raspored, biološki diverzitet i ulogu aktinomiceta u razgradnji organske materije utiču brojni faktori sredine. To su fizičko-hemijski faktori sredine: temperatura, pH vrednost, zamućenost, veličina čestica, hemijski sastav sedimenta i biotički faktori kao što su vrste biljaka koje žive na staništu i tip biljnog tkiva. U pogledu afiniteta prema biljnom materijalu specijalizacija aktinomiceta ide u pravcu: razgradnje različitih tipova i stanja biljnih tkiva.

7.1.2.1. *Kompeticija sa ostalim mikroorganizmima*

Aktinomicete kao deo mikrobne zajednice u vodenim sredinama stupaju u biotičke odnose sa ostalim mikroorganizmima. Ti odnosi uključuju sinergističke i antagonističke aktivnosti. Kompeticija u odnosu na često ograničene resurse, kakvi su u oligotrofnim sredinama, spada u red interesantnih i donekle proučavanih bioloških relacija. Aktinomicete proizvode širok spektar antibiotika kojim mogu da inhibiraju rast bakterija, virusa i protozoa. Ova kompetitivna sposobnost je važan faktor koji im omogućava da

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

uđu u proces razgradnje organske materije kao sekundarni kolonizatori. Takođe, one stvaraju snažne litičke enzime kojima mogu ugroziti zelene i modrozeleno alge istovremeno koristeći produkte razgradnje kao supstrat za rast. Liziranje ćelija modrozelenih algi u periodu cvetanja, i potvrda toga u laboratorijskim eksperimentima, je značajna sa aspekta mogućnosti da budu primenjene u kontroli rasta cijanobakterija.

7.2. Taksonomski i trofički diverzitet gljiva i gljivama sličnih organizama

Do sada je opisano oko 75000 vrsta pravih gljiva koje nastanjuju vodena i terestrična staništa, 700 vrsta vodenih plesni i oko 800 vrsta sluzavih gljiva. Smatra se da je broj do sada opisanih gljiva svega 5% od ukupnog broja vrsta pravih gljiva te se njihov broj procenjuje na oko jedan i po milion. Gljive su eukariotski, nevaskularni organizmi, koji se razmnožavaju sporama koje se rasprostiru vazduhom, vodom i insektima. Mogu stvarati polne i bespolne spore što umnogome zavisi od uslova sredine. Gljive su uglavnom nepokretni organizmi, dok pojedine grupe u koje spadaju i vodene gljive, odnosno hitride (Chytridiomycota) imaju pokretne spore.

Vegetativno telo gljiva može biti jednoćelijsko (kvasac) ili sastavljeno od mikroskopskih tankih cevastih tvorevina koje se nazivaju hife. Hife gljiva su dijametra oko 10 mikrometara bez mogućnosti da stvaraju tkiva, niti složenije strukture. Vrlo često se granaju pri čemu grade vegetativno telo koje se naziva micelija. Ona može biti građena u vidu korenolikih tvorevina (rizomicelija) koje nastaju u supstratu kod vodenih gljiva (hitridiomyceta), dok kod većine ostalih pravih gljiva hife tvore veoma razgranatu mrežu koja prožima supstrat.

Gljive su primitivni eukarioti. U njihovoj ćeliji pronalazimo uglavnom sve organele karakteristične za ostale eukariotske organizme sa određenim specifičnostima. Tako recimo hife gljiva kao barijeru prema spoljašnjoj sredini sintetišu ćelijski zid. Njegovu osnovu čine polimeri hitina. U ćelijskim membranama umesto holesterola pojavljuje se ergosterol. Vršni deo hifa karakteriše neograničen rast i on se naziva vršno telo. U njemu su smeštene brojne mitohondrije i veoma dobro razvijen citoskelet sačinjen od mikrofilamenata i mikrotubula. Gljive u odnosu na ostale eukariotske organizme imaju manja jedra sa svega nekoliko hromozoma. Mitoza i mejoza se odvijaju bez resorpcije jedrove membrane. Vakuole svojstvene hifalnim gljivama karakteristične su za starije hife. Višak ugljenika deponuju u vidu rezervne materije glikogena.

Gljive su heterotrofi, tj. usvajaju organske materije koje su drugi organizmi sintetisali. Hrane se ekstracelularnom digestijom što znači da se hranljive materije najpre enzimski razgrade van ćelije, a potom se transportuju u ćeliju.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Razmnožavaju se i bespolno i polno stvarajući pri tome različite vrste spora. Bepolne spore se stvaraju kada postoje povoljni uslovi za rast sa ciljem rasprostiranja gljiva. Polni proces se odigrava kao odgovor na sredinski stres pri čemu nastaje zigot koji vrlo često ima debeo omotač i predstavlja dormantan stadijum. Kod evolutivno naprednijih askomiceta i bazidiomiceta polni proces prati stvaranje plodnog tela koje je složene morfološke strukture. Morfologija spora, gameta i plodnih tela se u tradicionalnoj mikologiji koriste za klasifikaciju gljiva. Savremene tehnike molekularne biologije uveliko doprinose u razotkrivanju njihovog diverziteta. Na osnovu građe njihovih vegetativnih tela, bespolnih i polnih reproduktivnih struktura carstvo gljiva se deli na [pet različitih razdela \(Tabela 7.1\)](#).

Chytridiomycota – su vodene gljive koje imaju sposobnost da stvaraju polne i bespolne pokretne spore sa jednom zadnjom flagelom; **Zygomycota** – ili takozvane hlebne plesni imaju neseptirane micelije i stvaraju polne spore nastale specifičnom polnim procesom koji se zove zigogamija. Polni proces rezultuje stvaranjem debelozidnih mirujućih zigospora. Pri povoljnim uslovima sredine ove gljive stvaraju nepokretne bespolne spore odnosno sporangiospore koje se stvaraju unutar sporangija.

Glomeromycota- evolutivno stara grupa gljiva koja je poznata po formiranju endomikorize sa 70% kopnenih biljaka i formiranju veoma krupnih spora.

Ascomycota – specifičnost ove grupe gljiva su polne endogene spore (askospore) koje se stvaraju unutar askusa. Ove gljive stvaraju i bespolne egzogene spore (konidije na konidioforima).

Basidiomycota – Polni proces kod ovih gljiva je somatogamija podrazumeva spajanje kompatibilnih somatskih hifa i stvaranje dvojedarne sekundarne micelije. U životnom ciklusu ovih gljiva dominira dvojedarna faza. Nakon kariogamije stvaraju se bazidiospore (polne egzogene spore) na ćelijama koje se zovu bazidije. Ove gljive retko stvaraju bespolne egzogene spore (konidije).

Među pravim gljivama izdvaja se još jedna grupa koja je poznata pod nazivom **Deuteromycota**. U pitanju su gljive koje nemaju klasični polni način razmnožavanja. Stvaranje bespolnih egzogenih kondija jedni je način razmnožavanja ovih gljiva. Među njima ima najviše predstavnika takozvanih hifomiceta, odnosno gljiva čije je vegetativno telo građeno od septiranih hifa. One su značajne jer predstavljaju dominantnu grupu saprotrofnih gljiva vodenih staništa. Savremene tehnike molekularne biologije otkrile su da najveći broj predstavnika ove grupe pripada razdelu Ascomycota.

Vodene gljive uključuju nekoliko grupa pravih gljiva, ali i nekoliko grupa organizama koje su po svojoj morfologiji i biologiji vrlo slični gljivama. U ovu grupu spadaju: **Oomycota** ili takozvane vodene plesni; **Myxomycota** odnosno prave sluzave gljive sa vegetativnim telom koje se zove plazmodija; **Dictyosteliomycota** sluzave gljive koji grade celularnu

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

plazmodiju i razdeo **Plasmodiophoromycota**- koga čine gljive sa plazmodijom koje su endoparaziti biljaka. Svi gljivama slični organizmi su tradicionalno predmet proučavanja mikologije, a po svom poreklu slične su pojedinim grupama protista.

Tabela 7.1 Taksonomski i trofički diverzitet gljiva (preuzeto iz Sigeo, 2005)

Phylum	Characteristics	Order	Life-style
<i>Chytridiomycota</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Coenocytic thallus, ranges from simple to well-developed mycelium • Only fungi that have true motile cells (zoospores and gametes); these have single posterior whiplash flagellum 	Chytridiales	Mainly parasites of algae, water moulds, animal eggs and protozoa; some saprophytes
		– <i>Rhizoglyphidium</i>	
		– <i>Nowakowskiella</i>	Animal and plant parasites, freeliving saprophytes
		Blastocladales	
		– <i>Allomyces</i>	
– <i>Coelomomyces</i>	Mainly saprophytes		
– <i>Monoblepharidales</i>			
– <i>Monoblepharis</i>			
– <i>Spizellomycetales</i>			
– <i>Rozella</i>		Includes the endoparasite <i>Rozella</i>	
<i>Zygomycota</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Coenocytic thallus, typically well-developed mycelium • Sexual resting spores (zygospores) formed in all zygomycetes and some trichomycetes 	Zygomycetes	A few predatory aquatic species of amoebae, rotifers, and nematodes
		– <i>Zoophagus</i>	
<i>Ascomycota</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Septate mycelium • Production of ascospores in ascocarps 	Trichomycetes	All are obligate associates of arthropods; mostly symbiotic
		– <i>Smittium</i>	
<i>Basidiomycota</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Septate hyphae with clamp connections and dolipore septal pore structures • Produce basidiospores on basidia 	Saccharomycetales	Some saprophytic yeasts
<i>Deuteromycota</i> (<i>Fungi imperfecti</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • No clear sexual stages • A taxonomically mixed assemblage 		Saprophytes present in both clear and stagnant waters
		Aquatic members typically placed in <i>Deuteromycota</i> (have lost sexual stages)	
		Hyphomycetes	
		Miscellaneous group, including	Endoparasites and predatory fungi; attack whole animals including nematodes
		– <i>Dactylella</i> , <i>Arthrobotrys</i>	

Vodene gljive i gljivama slični organizmi su zastupljeni u svim vodenim ekosistemima. Oni su saprobi (koriste odumrlu organsku materiju) ili simbionti koji žive na ili u živom organizmu (kao mutualisti ili paraziti). Veoma su bitni članovi biocenoza sa istaknutom ulogom u degradaciji i konverziji otpornih biopolimera kao što su celuloza poreklom od drvene mase i otpalih listova u akvatičnim ekosistemima. U akvatičnim i terestričnim sredinama gde god ima dovoljno organskog materijala za rast gljive se za hranu takmiče sa drugim heterotrofima odnosno sa bakterijama. One su u tome posebno uspešne kada je hrana teško razgradiva odnosno sastavljena od biljnih i životinjskih polimera kao što su lignin ili hitin. Gljive su u vodenim sredinama takođe važne komponente perifitonskih zajednica koje se formiraju na površini vodenih biljaka.

7.3. Stajaće i tekuće vode kao staništa za zajednice gljiva

Gljive i gljivama slični organizmi predstavljaju neizostavne članove mikrobioloških zajednica u slatkovodnim ekosistemima širom planete. Njihovi životni ciklusi su integralne komponente gotovo svakog trofičkog nivoa. Mada su značajne kao patogeni, paraziti i simbionti, glavna funkcionalna uloga gljiva u slatkovodnim ekosistemima je razlaganje i mineralizacija alohtone i autohtone organske materije. Rast gljiva i akumulacija njihove biomase unutar biljnog materijala predstavlja važan izvor hrane za

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

konzumente detritusa. One su važni medijatori u procesima kruženja ugljenika, azota, fosfora i drugih biohemijskih jedinjenja esencijalnih za više trofičke nivoe unutar akvatičnih mreža ishrane.

Ceo vodeni kontinuum karakterišu značajne promene u hidrološkom, fizičkom-hemijskom i biološkom smislu. Sve te promene grade specifična staništa koja utiču na dekompoziciju organske materije od strane gljiva razlagača. Postojanje velikog broja različitih mikrostaništa uslovio je odgovarajući biodiverzitet vodenih gljiva. U površinskim vodama je do sada opisano oko 2000 vrsta vodenih gljiva koje su izolovane iz organskog materijala koji se razgrađuje, iz spora, ili kao paraziti vodenih biljaka i životnja ili združeni sa vodenim makrofitama koje se postepeno razgrađuju (Tabela 7.2). U potocima i rekama vodene hifomicete su pored hitrida među najbolje proučenim grupama gljiva. Predstavljaju ekološku zajednicu od oko 300-320 vrsta koje pripadaju grupi Deuteromycota. Dominantne su u zajednicama gljiva koje razlažu biljni materijal poreklom od obalske vegetacije. Kompletan životni ciklus hifomiceta se odvija u vodi ili privremeno plavljenim staništima. Njihova prilagođenost se ogleda u stvaranju konidija sa specifičnom morfologijom koja olakšava rasprostiranje i pričvršćivanje za biološki materijal u tekućim vodama.

Tabela 7.2 Diverzitet gljiva u površinskim vodama (izvor Gulis et al., 2009)

Table 1 Some estimates of fungal diversity in freshwater habitats

<i>Taxonomic or ecological group</i>	<i>Number of species</i>
Chytridiomycota	576
Trichomycetes	148
Ascomycota (meiosporic)	ca. 500
Basidiomycota	11
Aquatic hyphomycetes (mitosporic)	ca. 300
Aero-aquatic fungi (mitosporic)	90
Miscellaneous mitosporic fungi	405
Fungi on emergent macrophytes	>600 ^a
Freshwater or amphibious lichens	>100
Oomycota (Saprolegniales) ^b	138

^a600 species have been recorded from a single species of emergent macrophyte, *Phragmites australis*.

Zajednice gljiva u lentičkim slatkovodnim ekosistemima, kao što su jezera, ribnjaci i močvare, su mnogo divergentnije i sastoje se od različitih terestričnih (npr. Chytridio-, Asco-, Basidiomycota) i vodenih gljiva. Struktura zajednice zavisi od staništa, odnosno da

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

li su u pitanju litoral ili pelagijal i specifičnih uslova sredine koji omogućuju razgradnju (potopljeni ili biljni material koji se nalazi u vazduhu). Gljive naseljavaju različite biljne supstrate koji se razgrađuju, a poreklom su od fitoplanktona, vodenih makrofita i kopnenih biljaka.

7.4. Saprotofna aktivnost gljiva

Saprotrofi (saprofiti) su organizmi koji u ishrani koriste ostatke uginulih organizama. U svojoj ulozi razlagača odumrle organske materije, gljive su posebno važne u razgradnji polimera velike molekulske mase kao što su lignin, celuloza (biljni materijal) i hitin (egzoskelet insekata). Ovakvi polimeri usporavaju degradaciju biomase. Procenjeni poluživot bioloških polimera (Tabela 7.3) pokazuje da je lignin posebno otporan na razgradnju. Keratinski proteini i huminska jedinjenja takođe zahtevaju duge periode za biodegradaciju. Sposobnost gljiva da razgrađuju lignin uključuje set različitih enzima, metala, ko-supstrata i molekularni kiseonik. Glavni enzim koji je odgovoran za lignolitičke aktivnosti gljiva je lignin peroksidaza, koja oksiduje lignin dajući aromatične katjon radikalne intermedijere koji su podvrgnuti reakcijama spontane razgradnje.

Tabela 7.3 Procenjeno vreme poluživota bioloških polimera u prirodnom okruženju (prilagođeno od Lengeler et al., 1999)

Polymer	Half-life
Lignin	20–2000 years
Keratin (hair, wool)	1–2000 years
Humic compounds	2–200 years
Cellulose	0.01–2 months
Starch	1–10 days
Globular proteins	0.1–2 days

Biodegradacija organske materije uz pomoć gljiva kreće se od delimične razgradnje pa sve do potpune mineralizacije. Delimična razgradnja podrazumeva pretvaranje organske materije u druge oblike organskog materijala koji dalje mogu obrađivati drugi mikroorganizmi ili se mogu transportovati van sistema. Saprotofne gljive prisutne u potocima su posebno važne u konverziji spoljnih (alohtonih) organskih materija kao što je opalo lišće u unutrašnje (autohtone) komponente lanca ishrane tekućih voda.

7.4.1 Kolonizacija, rast i sukcesija gljiva

Razgradnja biljnog i životinjskog materijala posebno je važna u bentosnom regionu jezera i reka. Ovaj process uključuje kombinovane aktivnosti raznih organizama, uključujući bakterije, gljive i beskičmenjake. Početnu kolonizaciju i raspad tkiva primarno sprovode gljive, a bakterije su uključene u drugu fazu dekompozicije. Učešće pojedinih

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

vrsta gljiva zavisi od vrste supstrata. Pojedini predstavnici hitridiomiceta nalaze se prevashodno na celuloznom biljnom materijalu (*Nowakowskiella ramose*), dok drugi član ove grupe raste saprotrofno u slatkoj vodi na egzoskeletu vodenog cveta i ostacima hitina (*Chytridiomyces hyalinus*). Ova gljiva se može lako gajiti u laboratoriji na hranljivoj podlozi sa hitinom i idealna je za demonstriranje proizvodnje ekstracelularne hitinaze.

Eksploatacija organskog supstrata od strane gljiva uključuje tri glavne faze - *kolonizaciju, rast i širenje*. Gljivične spore mogu se lako prikupiti iz uzoraka vode, obojiti i prebrojati. Koncentracija spora gljiva raste tokom inputa biljnog materijala i ostaje visoka sve dok on egzistira u vodotoku. Sposobnost spora da izvrše kolonizaciju svežeg supstrata može se izraziti kao „potencijal inokulacije“. Njega definišu koncentracija spora, efikasnost pričvršćivanja, početna brzina rasta i sposobnost kompeticije. Kod nekih vrsta (npr. *Clavospora longibrachiata*) čini se da brojnost konidija u suspenziji je glavni faktor koji određuje sposobnost kolonizacije, dok je kod drugih vrsta (npr. *Flagellospora curvula*) obrnuto. Rast gljiva na pojedinačnim listovima, koji predstavljaju ograničenu rezervu hrane, iako imaju različite parametre (brzina rasta gljiva, disanje, formiranje spora) dostižu maksimume biomase približno u isto vreme (Suberkropp, 1992). Sposobnost inicijacije sporulacije tokom rasta može biti prilagođena efemernoj prirodi lisnog detritusa i drugih supstrata u tekućim vodotokovima. Prilikom razvoja zajednica gljiva na organskim supstratima u vodenom okruženju gljive koje rano izvrše kolonizaciju supstrata ostaju dominantne tokom čitavog procesa razgradnje. Tom prilikom sukcesije vrsta gotovo da se ne dešavaju.

Rezultat aktivnosti gljiva je razgradnja strukturnih polimera i oslobađanje hranljivih materija unutar supstrata što ga čini pogodnijim za konzumiranje od strane detritivornih beskičmenjaka. Dokazano je da gljive utiču na ukus i kvalitet lišća koje kao hranu koriste beskičmenjaci. Larve insekata (red Trichoptera) na osnovu ukusa se selektivno hrane određenim populacijama gljiva koje nastanjuju površinu istog lista.

7.4.2. Razgradnja lišća

7.4.2.1. Razgradnja listova u terestričnim i vodenim sredinama

Odumrli delovi biljaka (delovi stabla, grančica, lišća) predstavljaju najvažniji alohtoni supstrat u lotičnim sistemima čija se mikrobiološka razgradnja odvija delovanjem pre svega gljiva i bakterija. Degradacija biljnog materijala se međutim razlikuje između terestričnih i akvatičnih ekosistema u brojnim važnim aspektima. Kao i u terestričnom okruženju, nakupljanje lišća u vodotocima karakteriše izrazita sezonska dinamika, a gljive su glavni uzročnik njihove razgradnje. Proces razgradnje biljnog materijala razlikuje se između ove dve sredine u nekoliko ključnih aspekata.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

U rekama pojedinačni listovi su diskretne resursne jedinice koje se neprestano preuređuju (mešaju) tokom razgradnje. U terestričnim sredinama listovi u različitim fazama raspadanja su slojeviti radi vremena ulaska lišća u ovaj ekosistem.

U potocima i rekama opalo lišće postoji u diskretnim nakupinama koje su međusobno odvojene. Zbog toga se kolonizacija dešava prvenstveno širenjem konidija nizvodno, a ne rastom hifa sa jednog na drugi list kao u terestričnim sredinama.

Brzine razgradnje lišća su obično veće u potocima u poređenju sa terestričnim okruženjima. To je posledica niza faktora spoljašnje sredine, uključujući stalno prisustvo vode, neprekidnu dostupnost anorganskih hranljivih materija iz vodene struje, mehanička fragmentacija silom vodene struje i modulacija dnevnih i sezonskih promena temperature unutar vodene mase.

Biljni materijal u potocima se češće meša u odnosu na terestrična staništa, pri čemu pojedinačni listovi mogu da: potonu u anaerobne uslove blata, budu konzumirani od strane invertebrata ili budu odnešeni vodom iz sistema. U takvim efemernim uslovima očekuje se da će gljive kao kolonizatori lišća imati strategiju brzog rasta i razmnožavanja - sa formiranjem spora i širenjem koji predstavljaju glavni deo raspodele resursa. Laboratorijske studije o infekciji listova vodenim hifomicetama pokazuju brzu konverziju lista u gljivičnu biomasu pri sobnoj temperaturi struje, sa maksimumom u biomasi i metaboličkoj aktivnosti oko 15 dana nakon inicijalne invazije (Slika 7.1). Važnost reprodukcije je naglašena činjenicom da sporulacija počinje vrlo ubrzo nakon početka rasta i dostiže maksimum istovremeno sa biomasom. To ukazuje da je dovoljna i mala količina biomase za stvaranje spora i dalju disperziju gljiva unutar vodotoka.

7.4.2.2. Vremenske faze u procesu raspadanja lišća

Proces dekompozicije opalog lišća u vodotoku se odvija u tri glavne faze.

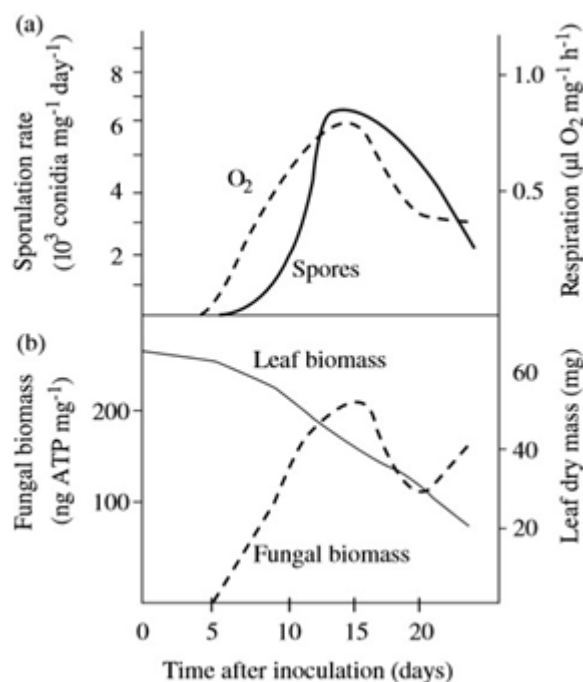
Ispiranje rastvorljivih sastojaka Gubitak rastvorljivih sastojaka započinje neposredno nakon što lišće postane vlažno. U roku od nekoliko dana rastvorena organska materija (DOM) dospeva u glavni tok. Do 25% ukupne suve mase lišća gubi se ispiranjem u prvih 24 sata nakon dospeća lišća u vodu. Rastvorljivi sastojci izgubljeni tokom ispiranja uglavnom su polifenoli i ugljeni hidrati.

Mikrobiološka degradacija Period mikrobne kolonizacije i rasta koji uključuje razgradnju gljivama i bakterijama dovodi do velikih promena u strukturi i sastavu lišća (Slika 7.2).

Mehaničko usitnjavanje od strane beskičmenjaka. To se obično dešava kasnije u procesu obrade (pošto zahteva prethodno mikrobiološku pripremu) i završeno je kada ne ostanu krupne čestice. Fina čestična organska materija (FPOM) nastala mehaničkom

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

aktivnošću u vodenom stubu, prenosi se nizvodno i podvrgava daljoj mikrobiološkoj razgradnji.



Slika 7.1 Rast i aktivnost *Tetracladium* (Hyphomycetes) na lisnim diskovima: (a) respiracija gljiva paralelno raste s porastom biomase gljiva; (b) inokulacija lisnih diskova dovodi do faze (od 5–20 sati) rasta gljiva, sa odgovarajućim padom biomase listova (na osnovu slike iz Suberkropp-a, 1992.)

Mikrobiološka degaradacija biljnog materijala

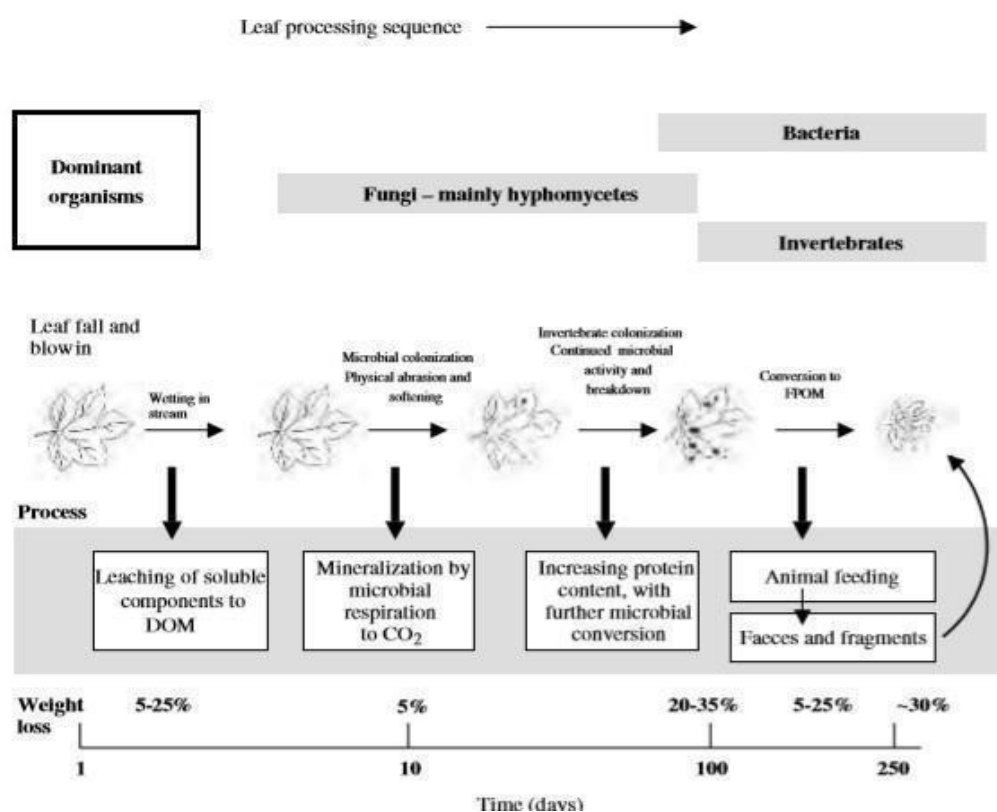
Tokom druge faze razgradnje listova, mikroorganizmi naseljavaju i rastu na biljnom supstratu. Nakon početnog gubitka rastvorljivih sastojaka (-25%) nastavlja se dalje smanjenje suve biomase sporijom brzinom. Razlike u strukturi i hemijskom sastavu listova uzrokuju i značajne razlike u brzini mikrobiološke razgradnje. Listovi sa velikom inicijalnom koncentracijom lako usvojivih hranljivih materija se brže razgrađuju. Komponente poput lignina i tanina imaju inhibitorni efekat. Stvaranje kompleksa između proteina i tanina jedan je od glavnih uzroka spore razgradnje lisne biomase kod mnogih listopadnih drvenastih biljaka.

Aktivnosti gljiva i bakterija u razgradnji lisne biomase mogu se razmatrati u odnosu na: gubitak određenih hemijskih sastojaka, povećanje koncentracije azota, sukcesiju mikroorganizama i relativno učešće gljiva i bakterija.

Gubitak specifičnih sastojaka- Rezultati istraživanja razgradnje lišća hrasta i divljeg oraha su pokazali da se lipidi prilično brzo razgrađuju. Sadržaj celuloze i hemiceluloze opadao je istom brzinom kao i ukupna biomasa lišća, dok se lignin razlagao najsporije.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Povećanje koncentracije azota. Tokom mikrobiološke aktivnosti, povećava se udeo azota u preostaloj suvoj biomasi i to iz dva razloga. Prvo, proteini i polipeptidi koji se oslobađaju tokom razgradnje biomase s ligninom postaju otporni na dalju razgradnju. Ova azotna jedinjenja tako ostaju, dok se ostali sastojci gube, što rezultuje porastom udela azota u ostatku biomase. Do povećanja organskog azota takođe dolazi i usled stvaranja biomase mikroorganizama i usvajanjem nitrata iz rečne vode.



Slika 7.2 Glavni faze tokom procesa raspadanja lišća u potocima i rečicama umerenog toka (zasnovano na prilogu iz Allana, 1995)

Mikrobna sukcesija. Suberkropp i Klug (1976) pratili su detaljnu sukcesiju gljiva i bakterija na opalom lišću u potoku od novembra do juna u severnoj umereno kontinentalnoj oblasti. U prvoj polovini perioda razgradnje (12–18 nedelja) dominirale su gljive, pre svega hifomicete. Tipično, 4–8 vrsta gljiva dominira tokom ove faze, pri čemu je sledeća faza sukcesije prvenstveno određena onim vrstama gljiva koje prve dolaze u vidu vodenih spora. Broj bakterija se postepeno povećavao tokom razgradnje, sa dominacijom ovih organizama u završnoj fazi obrade biljnog materijala. Ulazak i aktivnost bakterija mogu biti pojačani ranijom razgradnjom lisne biomase od strane gljiva čime se povećava dostupna površina supstrata i oslobađaju se lako razgradljive supstance. Spore terestričnih gljiva često se zajedno sa listovima prenose u rečno okruženje, ali su dosadašnja istraživanja pokazala da one malo doprinose razgradnji lišća (Suberkropp i Klug, 1976). Studije Barloöcher (1985) sugerišu da su vodenim gljivama pogodovale hladnije zimske, dok su za aktivnost zemljišnih gljiva bile značajnije letnje temperature.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Relativni značaj bakterija i gljiva. Značaj mikroorganizama za proces razgradnje može se proceniti upoređivanjem gubitka mase tokom 4 nedelje, u prisustvu i odsustvu antibiotika (Tabela 7.4). Istraživanja Kaushik-a i Hinesa (1971) su pokazala da potpuno suzbijanje aktivnosti mikroorganizama inhibira razgradnju listova, bez gubitka lisne biomase i povećanja udela proteina. Inhibicija rasta gljiva (Tabela 7.4) imala je značajan uticaj na smanjenje biomase i povećanje sadržaja proteina, dok je bakterijska inhibicija bila manje efikasna - što sugerise da gljive u većoj meri doprinose promenama u masi i udelu proteina nego bakterije. Studije o sposobnosti maceriranja pet vrsta vodenih hifomiceta (Suberkropp i Klug, 1980) sugerisale su da gljivama ne treba nikakva mehanička fragmentacija da bi obavljale svoje aktivnosti i da su u stanju da potpuno razgrade lisno tkivo (pretvarajući 65–75% biomase) na 10° C, u odsustvu potrošača makroinvertebrata. U prilog tome govori i dobro poznata činjenica da hife gljiva mogu da prodru kroz mehanički veoma jak supstrat zahvaljujući visokom osmotskom pritisku od oko 80 bara koji se stvara u vršnom telu (. Stoga ostaci biljnog materijala u vodi veoma brzo budu prožeti spletom razgranatih hifa gljiva.

Tabela 7.4 Uticaj gljiva i bakterija na razgradnju brestovog lišća u tekućoj vodi (podaci iz Kaushik i Hines, 1971)

Activity	Fungi and bacteria active	No microbial activity	Bacteria active only	Fungi active only
Treatment	No antibiotics	Antifungal and antibacterial antibiotics	Antifungal antibiotics only	Antibacterial antibiotics only
Loss in mass (%)	21.9	1	9.3	17.5
Final protein content (% final mass)	12.5	5.9	7.3	11.3

*15 listova u vidu diska prečnika 1 cm postavljeno je u 300 ml vode iz potoka, obogaćenu azotom i fosforom na 10° C. Antibiotici su dodavani kako su prikazani i obnavljani dva puta nedeljno. Rezultati pokazuju - (a) procentualni gubitak lisne biomase 4 nedelje nakon početnog potapanja lišća i (b) konačni sadržaj proteina, izražen kao procenat ukupne biomase. Na početku eksperimenta, srednji sadržaj proteina je bio 4,3%.

Velika raznolikost se javlja u načinu razgradnje lišća na dnu tekućih voda, gde površine listova biljaka predstavljaju stanište za čitav mozaik mikrobnih kolonija. Ova biološka raznolikost u pogledu degradacionih aktivnosti nastaje zbog varijacija u vremenu opadanja lišća (a time i početka procesa kolonizacije), varijacije u stopama razgradnje različite vrste lišća i biološke raznolikosti gljiva koje su prisutne u rečnom toku.

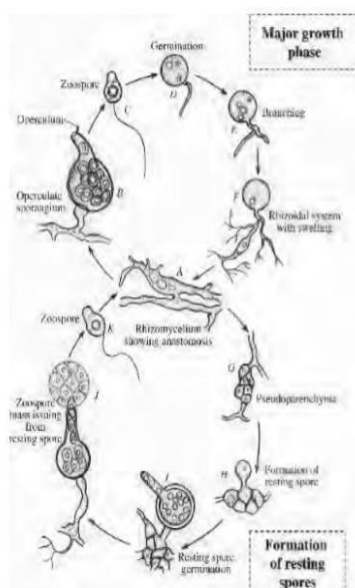
7.4.3. Saprotofne gljive-hitride I deuteromicete

Saprotofna ishrana je veoma zastupljena u dve glavne grupe vodenih gljiva – Chytridiomycota i Deuteromycota. Saprotofne gljive karakteriše dobro razvijena vegetativna faza, što je važno prilikom prodiranja u supstrat i za apsorpciju hranljivih materija. Vegetativna faza kod hitrida podrazumeva formiranje rizomicelije koja se širi u supstrat i služi za kolonizaciju, pričvršćivanje i ishranu gljiva. Reproductivnu fazu karakteriše formiranje sferične sporangije u kojoj se formiraju pokretne spore (zoospore). Nasuprot tome deuteromicete imaju pravu, septiranu i razgranatu miceliju koja služi za kolonizaciju, prožimanje supstrata odnosno ishranu. Reproductivna faza kod ovih gljiva se stvara van supstrata i podrazumeva stvaranje konidiofora i konidija.

7.4.3.1. Saprotofne hitridne gljive

Primer životnog ciklusa saprotofnih hitridnih gljiva možemo videti kod široko rasprostranjene vrste *Nowakowskiella ramosa*, koja se javlja širom Evrope, Severne i Južne Amerike, Azije i živi od degradacije biljnog materijala u slatkovodnim staništima. Ovu gljivu karakteriše stvaranje spora sa jednom flagelom koje služe kao glavno sredstvo za rasprostiranje u vodenoj sredini (slika 7.3). One takođe mogu preći u dormantni stadijum na mrtvom organskom supstratu koji se nalazi u bentosnom delu vodnog tela. Nastupanjem povoljnih životnih uslova encistirane zoospore klijaju u cevastu tvorevinu koja počinje dihotomo da se grana i razvija u vegetativni talus. Sastoji se od nepravilno razgranate mreže filamenata koji se nalaze iznad supstrata, odakle nastaju rizoidi kojima ove gljive prodiru u unutrašnjost supstrata.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta



Slika 7.3 Životni ciklus *Nowakowskiella ramosa*: životni ciklus se sastoji od dve faze, glavne faze rasta (A – F) i faze formiranja spore u mirovanju (G – H) sa narednom generacijom zoospora (I – K) (slika preuzeta od Alekopoulos-a i saradnika, (1996)

Nakon opsežne faze rasta, filamenti iz površinske rizomicelije se razvijaju u sporangije koji sadrže između 4 i 40 zoospora. Dormantne spore se razvijaju iz pseudoparenhimskog tkiva koje nastaje fuzijom ćelija. Spore mogu klijati direktno ili mogu oslobađati zoospore, te na taj način predstavljaju zoosporangije u mirovanju.

7.4.3.2. Saprotofne deuteromicete- hifomicete (Deuteromycota: Hyphomycetes)

Unutar deuteromiceta grupu hifomiceta karakteriše postojanje septiranih hifa koje sačinjavaju vegetativno telo odnosno micelij. Važni su kosmopolitski saprotrofi vodenih sredina koji se javljaju u potocima i rekama. Najviše ih ima na lišću listopadnog drveća koje je u vodno telo dospelo sa rečne obale, ali rastu i na drugim vrstama biljnog materijala poput drveta, trave i vodenih makrofita.

Hifomicete možemo podeliti u dve glavne grupe na osnovu njihove biologije.

Gljive koje se javljaju u dobro aerisanim vodama na potopljenom lišću i drvetu. Konidije se formiraju u vodi. Nakon oslobađanja dospevaju do pene na površini vode. Mnoge od ovih vrsta stvaraju razgranate, četvorougane ili višeučane konidije. Razgranatost ovih spora je važna u pričvršćivanju za supstrat u uslovima turbulentnog kratanja vode ili prilikom prodiranja spore u organski materijal. Neke od ovih gljiva su aktivne na niskim temperaturama i u jesen su primarni kolonizatori lišća. Uključene su u rane faze razgradnje lišća, gde oslobađaju celulolitičke, pektolitičke i proteolitičke enzime. Razne studije su takođe pokazale da su ove gljive važne za promenu kvaliteta biljnog materijala čineći ga atraktivnom hranom za vodene beskičmenjake.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Drugu grupu čine gljive prisutne u mirnim odnosno stajaćim vodenim sredinama. U takvim staništima preživljavaju u vodi i mulju sa niskim sadržajem kiseonika, iako im je za kolonizaciju novih supstrata potreban veći nivo kiseonika. Konidije se često formiraju na granici vazduh-voda i zarobljavaju vazduh u zatvorenim strukturama. Vazdušni mehur čini da ove konidije plivaju na površini vode, a takve gljive se često nazivaju i aeroakvatične gljive.

7.4.4. Gljive i procesi razgradnje

Razgradnja biljnog materijala u površinskim vodama usmerava složen spektar biotičkih i abiotičkih procesa ka stvaranju biomase organizama (mikroorganizama i beskičmenjaka). Ovaj process mineralizacije organske materije prati nastanak ugljen-dioksida, rastvorljivih nutrijenata kao što su azot, fosfor i finih čestičnih organskih materija.

Sa stanovišta gljiva brzina procesa razgradnje je pod direktnim uticajem odgovora zajednice gljiva na: dominantne uslove koji utiču na razgradnju, kvalitet detritusa kojeg metabolišu i mnoštvo potencijalnih interakcija koje postoje unutar i između različitih grupa razlagača u okviru akvatične mreže ishrane. Na primer alohtoni i autohtoni biljni materijali koji dospevaju u slatkovodna staništa mogu biti veoma različiti po svom hemijskom sastavu, po odnosu ugljenika azota i fosfora, po sadržaju lignina, fizičkim osobinama i po vremenu kada je materijal postao dostupan za razgradnju od strane gljiva (da li je u pitanju leto ili zima). Biljni materijal u slatkovodnim sredinama može biti konstantno ispod površine vode, povremeno potopljen ili većim delom vremena izložen vazduhu. Ovakvi različiti hidrološki uslovi kao i ostali sredinski faktori kao što su temperatura, pH, kiseonik mogu značajno uticati na kolonizaciju, rast i razgradnju biljnog materijala od strane gljiva kao i na razvoj i disperziju spora.

7.4.5. Gljive u lotičkim ekosistemima: glavni tok i vodene hifomicete

Potoci i rečice koji prolaze kroz šumske ekosisteme glavnu alohtone organske materije dobijaju od obalske vegetacije. Listovi biljaka, izdanci i grančice čine glavni izvor organske materije koje dospeva u vodotok. Procenjuje se da ovaj izvor učestvuje sa čak 99% od ukupnog inputa ugljenika i predstavlja glavni energetski izvor potoka. Razgradnja ovog biljnog materijala je ključni ekosistemski proces što je dokazano brojnim istraživanjima sprovedenim u poslednjih nekoliko decenija. Istraživanja su čvrsto ustanovila da gljive kao razlagači i beskičmenjaci kao potrošači (konzumenti) predstavljaju ključne "igrače" u procesu razgradnje biljnog materijala u potocima. Dokazano da su hifomicete, dominantna grupa gljiva koja učestvuje u procesu

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

biodegradacije biljnog materijala. Na globalnom nivou je pokazano da zajednice gljiva najveću biološku raznovrsnost pokazuju u sredinama umerenog klimatskog pojasa.

U šumskim regionima umereno klimatskog pojasa najveća količina biljnog materijala u vodotoke dospeva u jesen. Taj material vrlo brzo biva nastanjen vodenim hifomicetama i drugim mikroorganizmima. Kada su gljive u pitanju invazija biljnog materijala počinje pričvršćivanjem konidija i to je kritičan korak za kolonizaciju. Akvatične hifomicete su se tokom evolucije prilagodile ovom izazovu tako što proizvode krupne konidije [jedinstvenog oblika](#). Morfologija konidija, vodeni tok i površinska topografija biljnog materijala značajno utiču na pričvršćivanje i uspešnu kolonizaciju akvatičnih hifomiceta. Na ovu fazu utiče i hemijski sastav biljnog materijala što rezultuje formiranjem specifičnih zajednica gljiva.

Kada se pričvrste za supstrat, pri povoljnim uslovima, konidije klijaju za svega nekoliko časova stvarajući haploidnu hifu čiji vrh se pretvara u apresoriju koja ulazi u intercelulare i biljne ćelije. Prodiranje u biljno tkivo kod gljive provocira izlučivanje enzima celulaza, pektinaza koji omogućuju digestiju biljnih polimera. Agresivni rast hifa i enzimska digestija dovode do narušavanja mehaničke strukture biljnog materijala odnosno mikrobiološkog kondicioniranja detritusa lista. Na taj način vodene hifomicete svojim aktivnostima poboljšavaju ukus i nutritivnu vrednost biljnog materijala za beskičmenjake koji se pojavljuju kao konzumenti. Pored toga gljive svojom aktivnošću doprinose proizvodnji i oslobađanju fine čestične organske materije koja u vodenoj sredini predstavlja primarni izvor hrane ostalim konzumentima poput sakupljača.

7.4.5.1. Vodene hifomicete: biomasa gljiva, produkcija i sporulacija

Istraživanja gljiva sprovedena u prirodnim vodotokovima i u kontrolisanim laboratorijskim uslovima podrazumevaju praćenje biomase, rasta i sekundarne produkcije akvatičnih hifomiceta. Savremenije metode biomase u vodenim sredinama prate određivanjem koncentracije ergosterola. Utvrđeno je da je maksimum vrednosti biomase gljiva dostignut od druge do desete nedelje od početka eksperimenta što je zavisilo od brojnih faktora. Među najvažnijima su bili vrsta biljke od koje materijal vodi poreklo, hemijski sastav dostupnih nutrijenata iz okolne sredine i ostali abiotički faktori. Nakon pomenutog vremena utvrđeno je da biomasa gljiva čini svega 10 do 20% od ukupne težine detritusa. Posle dostizanja maksimuma, biomasa gljiva opada tokom kasnijih stadijuma razlaganja listova i to obično zbog stvaranja konidija, starenja i odumiranja hifa ili zbog ispaše beskičmenjaka odnosno konzumenata detritusa. Brzina rasta gljiva prilikom razgradnje biljnog materijala se kreće od 0,01 do 0,64 po danu i to je tipični maksimum kada je koncentracija biomase još uvek relativno mala. Iako je brzina rasta gljiva sporija u odnosu na bakterije, produkcija biomase gljiva je često mnogo veća u odnosu na bakterijsku. Nakon postignutog maksimalnog rasta akvatične hifomicete dosta biomase troše na ranu i brzu reprodukciju. Utvrđeno je da ove gljive mogu

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

investirati 46-80% njihove biomase u stvaranje konidija. Rast gljiva u umerenom klimatskom području je povezan sa maksimumom koji se postiže u jesen, kada je i najveći priliv velike količine alohtonog biljnog materijala. U potocima je tokom leta biomasa gljiva i koncentracija konidija najmanja što je posledica nedostatka supstrata. Brza kolonizacija, razmnožavanje i rasprostiranje vodenih hifomiceta su ključni momenti njihovog životnog ciklusa odnosno njihove životne strategije po čemu se oni razlikuju od ostalih grupa gljiva. Ovakav ciklus je nazvan životni ciklus "buma i kraha" koji podrazumeva veoma brz rast, a nakon iscrpljivanja hranljivih materija dolazi do naglog pada, odnosno kraha biomase. Takođe treba napomenuti da sličnu dinamiku pokazuju životni ciklusi vodenih beskičmenjaka čiji porast biomase je u direktoj vezi sa izvorom hrane koja se kondicionira zahvaljujući aktivnošću gljiva. U vodotocima tropskih i subtropskih regiona sezonska dostupnost nutrijenata gljivama uslovljena je fluktuacijama vode za vreme kišnih i sušnih perioda.

7.4.5.2. Doprinosa gljiva u razgradnji biljnog otpada u potocima i rečicama

Aktivnost gljiva koja se može meriti maksimumom biomase i sporulacijom u direktnoj je vezi sa brzinom razgradnje biljnog otpada, što govori da veliki deo ugljenika sadržan u biljnom materijalu vodi direktno do vodenih gljiva. Rezultati istraživanja u laboratorijskim uslovima i prirodnim vodotokovima su pokazali da asimilacija gljiva koja podrazumeva produkciju biomase i respiraciju može učestvovati sa 23 do 56 % u ukupnom gubitku ugljenika prilikom procesa degradacije biljnog materijala. Učešće u ukupnom gubitku ugljenika zavisi pre svega od temperature i dostupnosti rastvorenih hranljivih sastojaka. Doprinosa gljiva je dominantan u ukupnoj mikrobiološkoj produkciji i on iznosi preko 94 %. Bakterijski razlagači doprinose sa svega 4-13% što ne podržava hipotezu da bakterije imaju centralnu ulogu u procesima razgradnje detritusa kada je organski materijal u obliku fine čestične ili rastvorene organske materije.

Uticaj diverziteta akvatičnih hifomiceta na funkcionalnost zajednica gljiva, uzimajući u obzir stvorenu biomasu i produkciju spora, tokom razgradnje biljnog otpada u potocima je bila tema istraživanja velikog broja istraživača. U poslednjoj deceniji nekoliko studija je ukazalo na pozitivnu korelaciju između broja vrsta gljiva u mikrobiološkoj zajednici i brzine dekompozicije lišća. Međutim, mnogo značajnije je istaći da je uticaj funkcionalnog diverziteta akvatičnih hifomiceta veći u odnosu na sam specijski diverzitet. Takođe je utvrđeno da uslovi sredine kao što su temperatura i dostupnost nutrijenata značajno utiču na diverzitet akvatičnih hifomiceta, a time i na brzinu razgradnje biljnog materijala. U šumskim potocima je procenjeno da se površinska produkcija biomase gljiva (biomasa po jedinici površine za godinu dana) kreće od 1 do 23 g C/m²/god. Produkcija biomase na jedinicu površine pokazuje velike sezonske fluktuacije usled izrazito velikih razlika u inputu opalog lišća.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Godišnja asimilacija od strane gljiva (produkcija biomase i respiracija) je procenjena od 10 do 29 % od godišnjeg inputa biljnog materijala.

7.4.5.3. Ključni faktori koji utiču na aktivnost gljiva i dekompoziciju biljnog materijala u potocima i rečicama

Faktori spoljašnje sredine koji mogu imati jak uticaj na aktivnost gljiva i razgradnju biljnog materijala u potocima su: tip i hemijski sastav biljnog materijala; biotički odnosi unutar zajednice razlagača i čitav niz abiotičkih faktora (poput temperature, brzine toka vode, plavljenja odnosno dostupnosti vode i dostupnost kiseonika).

Hemijski sastav biljnog materijala odnosno supstrata posebno sadržaj lignina i hranljivih materija u biljnom materijalu jeste važan faktor koji utiče na aktivnosti gljiva i dekompoziciju u potocima i rečicama. Visok sadržaj lignina, kao i visok odnos ugljenika i ostalih nutrijenata unutar biljnog materijala imaju negativan uticaj na aktivnost gljiva (rast, biomasa, sporulacija). Pošto biljni materijal ima značajno veće odnose C:N i C:P aktivnosti gljiva su ograničene dostupnošću ovih nutrijenata. Kada se u potocima poveća sadržaj lako razgradljivih rastvorljivih nutrijenata koji smanje pomenute odnose dolazi i do povećanja aktivnosti akvatičnih hifomiceta. U tom smislu stimulacija mikrobiološke razgradnje biljnog otpada se može vršiti dodavanjem rastvorljivih nutrijenata. Osim rastvorenih hranjivih materija drugi hemijski parametri potoka kao što su alkalnost, pH vrednost i zagađenje mogu takođe uticati na aktivnost i diverzitet gljiva.

Iako akvatične hifomicete ne pokazuju senzitivnost prema niskoj pH vrednosti, postojanje kiselih uslova sredine povećava prisustvo metalnih jona u većim koncentracijama u vodi što može indukovati limitaciju fosforom i smanjenu aktivnost gljiva.

Akvatične hifomicete pokazuju već biološku raznovrsnost u mekim vodama, ali je aktivnost odnosno dekompozicija brža u tvrdim vodama. Ovo je posledica toga što gljive u tvrdim vodama luče veću količinu pektinaza koje doprinose omekšavanju i maceraciji otpalog lišća.

Temperatura je važan ekološki faktor koji utiče na metaboličke aktivnosti akvatičnih hifomiceta. Utvrđeno da je temperaturni optimum za prirodne zajednice gljiva u potocima između 12 i 15°C. Novija istraživanja su pokazala da povećanje temperature ili temperaturne oscilacije mogu značajno da promene interspecijske odnose u zajednici gljiva u potocima. Pored neposrednog uticaja na ćelije, temperatura može imati i posredan uticaj preko drugih ekoloških faktora kao što su sastav supstrata, dostupnost nutrijenata, koncentracija metala u vodenom stubu itd. Porast temperature su kod mnogih privremenih tokova i reka promenili njihove hidrološke osobine tako što su oni prešli iz lotičkih u lentičke vodene ekosisteme, ili čak terestrična staništa što utiče živi svet

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

posebno na gljive, detrivore, a samim tim i na brzinu biodegradacije organskog materijala.

Usporeni vodeni tok i nizak sadržaj rastvorenog kiseonika mogu značajno da redukuju biodiverzitet, rast i sporulaciju vodenih hifomiceta vodeći ka dominaciji aeroakvatičnih hifomiceta koje su bolje prilagođene sporotekućim i stajaćim vodama. Tako na primer brzina sporulacije na listovima jove koji su bili stalno potopljeni u vodi je bila skoro tri puta veća u odnosu na listove koji su prolazili kroz period isušivanja. Dužina trajanja, a ne i učestalost sušnih perioda je takođe važna za aktivnost vodenih gljiva. Ako period isušivanja kratko traje onda takve promene nemaju velik uticaj na aktivnost zajednice gljiva jer one u takvim situacijama mogu veoma brzo nakon isušivanja da vrate aktivnost na prethodno stanje.

7.4.6. Gljive u lentičkim ekosistemima: slatkovodne močvare i diverzitet gljiva

Slatkovodne močvare uključujući i litoralnu zonu jezera smatraju se značajnim ekotonom, odnosno prelaznom zonom između terestričnih i akvatičnih ekosistema koji su poznati po svom visokom biodiverzitetu i složenim trofičkim mrežama. Emerzne hidrofite kao što su *Typha*, *Juncus* i *Phragmites* (rogoz, sita i trska) u slatkovodnim močvarama proizvedu na godišnjem nivou biomasu koja prelazi 1000g suve mase·m⁻². Tela ovih biljaka predstavljaju rezervoare primarnog ugljenika i rezerve nutrijenata u većini močvara.

U slatkovodnim močvarama većina biomase ovih biljaka ulazi u ukupnu količinu detritusa gde mikrobiološki razlagači i detrivorne životinje igraju značajnu ulogu u njihovoj razgradnji i mineralizaciji. Uprkos tome što je dobro poznata količina biljnog materijala koja se stvara u močvarama i dalje u potpunosti nije jasno kako se u prirodi odvija njegova razgradnja unutar ovih staništa i kakva je uloga gljiva kao razlagača. Većina istraživanja u kojima se ispituje razgradnja biljnog materijala u slatkovodnim močvarama fokusirana je na mikrobiološke procese razgradnje koji postoje na ili u površinskim slojevima sedimenta. Dobijeni rezultati uglavnom idu u prilog "lažnoj" percepciji da se razlaganje biljnog materijala uglavnom dešava aktivnostima bakterija. Tako da rezultati o tome kakva je uloga gljiva u biogeohemijskim ciklusima još nije u potpunosti razjašnjena.

Prirodno razlaganje u poplavljenim močvarama jeste proces koji se odvija u nekoliko faza. Počinje pod vazdušno-terestričnim uslovima, nastavlja se tranzicijom do akvatičnih sredina i sedimenata što je praćeno kolapsom stajaćeg, odnosno materijala koji se nalazi van vodene sredine. Rezultati su nesumnjivo pokazali da u ovim prirodnim uslovima gljive imaju značajan doprinos biološkoj razgradnji emerznih biljaka.

Zajednice gljiva koje naseljavaju potopljeni biljni materijal u močvarama se uglavnom sastoje od taksonomski različitih grupa u odnosu na potoke i reke. Utvrđeno je prisusvo

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

preko 600 vrsta gljiva koje su zabeležene prilikom razgradnje biljnog materijala poreklom od trske. Najveći broj vrsta su članovi askomikota 94% (uključujući anamorfne hifomicete 30% i celomicete sa 22 %), dok su predstavnici bazidiomikota bili zastupljeni sa svega 6%. Nekoliko istraživanja beleži različite vremenske i prostorne promene u strukturi zajednice gljiva tokom razgradnje biljnog otpada. Kopnene gljive su najčešće zabeležene tokom inicijalne stajaće faze odnosno kada se biljni material nalazi iznad vode. Nakon toga zajednica je zamenjena vodenim gljivama i to kada je biljni otpad kolabirao odnosno dospao u sedimente močvara i postao prekriven slatkom vodom.

Trenutno najveća saznanja o diverzitetu gljiva u slatkovodnim močvarama dolaze od tradicionalnih mikroskopskih istraživanja gde se za detekciju i razlikovanje pojedinih vrsta koriste reproduktivne strukture gljiva i gde su u upotrebi različite laboratorijske odgajivačke tehnike. Prednosti savremenih molekularnih metoda će značajno doprineti u detaljnoj proceni diverziteta gljiva i procesa u lotičkim i lentičnim slatkovodnim ekosistemima. Međutim do danas postoji svega nekoliko studija koje su primenile ove moderne metode za detekciju gljiva koje su razlagači u močvarama.

Svega nekoliko istraživanja je pokazalo kvantitativni doprinos gljiva u razgradnji biljnog materijala i njihov potencijalni doprinos močvarnim ekosistemima u smislu kruženja ugljenika i ostalih nutrijenata. U dosadašnjim malobrojnim istraživanjima pokazano je da biomasa gljiva može da predstavlja 5-10 % od ukupne mase detritusa. Takođe je dokumentovano povećanje biomase gljiva u razgradnji rogoza i utvrđena je razlika u pogledu biomase gljiva koja je nastala prilikom razgradnje različitih delova biljke. Uočena je značajno veća biomasa gljiva koje su bile združene sa listovima, nego u otpadu koji potiče od stabla potopljenih biljaka. Ove razlike su konzistentne i mogu se objasniti hemijskim sastavom supstrata gde tkivo stabla ima mnogo nižu koncentraciju nutrijenata odnosno viši C:N i C:P odnos i sadrži više teško razgradljivog lignina u odnosu na tkivo listova.

Tokom razgradnje biljaka u vodi ili sedimentu dolazi do smene različitih uslova sredine tako što se nakon kolapsa materijala povećava dostupnost vode što vodi ka promeni u zajednici gljiva i odgovarajućim promenama u njihovoj biomasi i aktivnosti. Tako recimo kada dođe do prelaska biljnog materijala u vodenu sredinu dolazi najpre do brzog pada produkcije ATP-a i biomase gljiva i brzine rasta. Nakon inicijalnog smanjenja dolazi do povećanja biomase gljiva i brzine rasta tokom kasnijih faza dekompozicije potopljenog biljnog materijala. To ukazuje na promene u zajednici u pravcu dominacije gljiva koje su bolje adaptirane na vodene i "poluvodne" sredine. Rezultati dosadšnjih istraživanja ukazuju da više od 90 procenata od ukupne mikrobijalne biomase, koja je združena sa potopljenim materijalom biljaka, čini biomasa gljiva. Značajna količina biomase gljiva stvara se prilikom razgradnje biljnog materijala u močvarama što sugeriše da su gljive efektivni razlagači u enzimskoj transformaciji i asimilaciji ugljenika i nutrijenata koji se nalaze u detritusu.

7.4.7. Ključni faktori koji utiču na aktivnost gljiva i dekompoziciju biljnog materijala u močvarama

Kao i kod potoka i u ekosistemima močvara aktivnosti gljiva su pod velikim uticajem različitih fizičkih i hemijskih uslova okoline. Ovi uslovi se značajno razlikuju za zajednice gljiva koja nastanjuju delove biljke iznad vode od onih koje su aktivne na materijalu koji je potopljen. Velike razlike u fizičkim i hemijskim uslovima izazivaju razlike koje postoje u zajednicama gljiva. Uočene su jasne razlike u biomasi i produkciji gljiva koje učestvuju u dekompoziciji različitih biljnih organa poput listova ili stabla. Biomasa gljiva koje se pojavljuju kod dve biljne vrste roda *Typha* je obrnuto srazmerna odnosima C:N i C:P. Što su ovi odnosi veći to je koncentracija biomase gljiva manja. Ograničenost makro- i mikroelementima u spoljašnjoj sredini usporava rast i reprodukciju gljiva i usporava proces razgradnje biljnog materijala.

U većini terestričnih ekosistema dostupnost vode je ključni faktor za mikrobiološke aktivnosti pa samim tim i za aktivnost mikroba u razlaganju biljnog materijala koji je van vode unutar slatkovodnih močvara. Brojna laboratorijska i terenska istraživanja su ustanovila da su mikrobiološke zajednice, posebno zajednice gljiva dobro adaptirane na život na biljnom materijalu koji se nalazi iznad vode. One mogu veoma brzo da promene svoj metabolizam iz neaktivnog do potpuno aktivnog od momenta kada voda postane dostupna. Merenjem mikrobiološke respiracije preko oslobođenog ugljen-dioksida utvrđeno je da kod biljke iz roda *Juncus* postoje jasno uočljive dve faze u pogledu aktivnosti. Najviši nivo respiracije zabeležen je noću i u ranim jutarnjim časovima kada je voda dostupna putem rose odnosno kada se voda kondenzuje na površini biljke. Tokom dana kada voda ispari sa biljnog materijala mikroorganizmi smanjuju svoju aktivnost i prelaze u stanje desikacionog stresa. Ovakva istraživanja ukazuju da temperaturno zavisno povećanje relativne vlažnosti tokom noći i kondenzacija rose na lišću iznad vode predstavlja primarni mehanizam koji određuje ciklično povećanje dostupnosti vode, a samim tim i povećanje aktivnosti mikrobiološke zajednice u pravcu razgradnje biljnog materijala. Ovakva ekstremna metabolička prilagodljivost može biti ključna strategija za rast i preživljavanje gljiva u surovoj sredini kakav je biljni materijal koji se nalazi iznad vode. Gljive kao razlagači mogu brzo iskoristiti tu prednost brzog prilagođavanja da u veoma kratkim periodima, kada je voda dostupna, eksploatišu izvore detritusa odnosno da iskoriste sve prednosti životnog ciklusa koji funkcioniše po principu buma i kraha.

Pošto gljive i ostali mikroorganizmi ne poseduju aktivan mehanizam transmembranskog transporta vode, da bi je usvojili oni moraju povećati intracelularni sadržaj vode putem odgovarajućih mehanizama. Jedan od čestih mehanizama koji omogućuje ulazak vode u ćeliju je postojanje odnosno sinteza intracelularnih takozvanih kompatibilnih rastvoraka kao što su šećerni alkoholi (polioli) i trehaloza.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

U prirodnim uslovima je uočeno da su koncentracije poliola i trehaloza po jedinici biomase gljiva obrnuto srazmerne brzini mikrobiološke respiracije. Njihova najveća koncentracija zabeležena je tokom perioda niske dostupnosti vode.

Sposobnost gljiva da razgrađuju biljni materijal i da brzo akumuliraju i razgrađuju ove kompatibilne rastvorke ukazuje da je zajednica gljiva fiziološki veoma dobro prilagođena cikličnim promenama u temperaturi i isušivanju. To može biti ključna strategija prilagođavanja koja omogućava preživljavanje i dominaciju gljiva u staništima biljnog otpada na površini vode.

U slatkovodnim močvarama na aktivnost gljiva utiču i različite biotičke interakcije koje postoje unutar biljnog materijala. Potopljeni biljni materijal je stanište za razvoj složenih mikrobioloških biofilmova koji predstavljaju različite zajednice mikroorganizama (autotrofne alge i heterotrofni mikroorganizmi kao što su bakterije, gljive i protisti). Prostorna bliskost različitih mikrobioloških grupa na i unutar biljnog materijala predstavlja potencijal za razvijanje biotičkih odnosa između članova mikrobioloških zajednica. Pored algi u mikrobiološkom obraštaju, u neposrednoj blizini prisutne su bakterije i gljive koje stvaraju ekstracelularne degradativne enzime kao odgovor na aktivnu fotosintezu. Na biljnom materijalu koji se razgrađuje, u okviru mikrobiološke zajednice ustanovljen je trofički transfer ugljenika između autotrofa i heterotrofa. Tako je uspostavljen potencijal za algalni prajming efekat koji se može opisati kao pozitivan ili negativan u odnosu na dekompoziciju teško razgradivih organskih materijala kroz input lako razgradljive organske materije. Ovaj input labilnog ugljenika povećava mikrobiološku aktivnost gde se mikrobim heterotrofima nude energetske bogate jedinjenja koja povećavaju njihovu metaboličku sposobnost da razgrađuju i mineralizuju organsku materiju. Slična zapažanja su zabeležena i u potocima tako da se može reći da je prajming efekat u stvari fenomen koji je važan unutar akvatičnih ekosistema.

7.4.8. Perspektive budućih istraživanja slatkovodnih saprotrofnih gljiva

Na globalnom nivou slatkovodna staništa su veoma različita i značajno variraju u pogledu njihovih biotičkih i abiotičkih faktora. U slatkovodnim ekosistemima input alohtonog ili autohtonog biljnog otpada obezbeđuje kritičnu količinu osnovnih resursa za akvatične trofičke mreže. U njima mikrobiološki razlagači kao što su gljive i bakterije služe kao važan medijator u protoku ugljenika i nutrijenata, pre svega azota i fosfora do viših trofičkih nivoa. Diverzitet gljiva u slatkim vodama je veliki i predstavljen je svim glavnim grupama gljiva biljnog detritusa. Male dimenzije i intimna asocijacija gljiva sa detritusom otežava njihovu detekciju, determinaciju i procenu ekološkog značaja. Ovaj problem je donekle rešen zahvaljujući razvoju biohemijских i molekularnih tehnika u poslednjih nekoliko decenija.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

U nekoliko tipova slatkovodnih ekosistema, posebno potoka i močvara, primena ovih metoda će biti ključ u ustanovljavanju uloge gljiva u detritusnim mrežama ishrane. Mada je uloga gljiva u dekompoziciji biljnog otpada prepoznata, ipak još uvek postoje praznine u našem znanju koja se tiču njihove uloge u slatkovodnim ekosistemima. Ove praznine zahtevaju:

- Potrebu za širom primenom najsavremenijih biohemijskih i molekularnih tehnika za identifikaciju i bolje razumevanje značaja gljiva u razgradnji odumrlog biljnog materijala,
- Podatke na koji način ostale grupe mikroorganizma združene sa detritusom (alge, bakterije i protisti) potencijalno interraguju i utiču na gljive kao razlagače u prirodnim uslovima
- Više podataka vezanih za uticaj detritalnih izvora i hemije vode na stehiometriju gljiva (sekundarna produkcija gljiva) i njihov uticaj na strukturu, fiziologiju zajednice gljiva
- Detaljnija istraživanja o ulozi hitrida (Chytridiomycota) u razgradnji biljnog materijala u slatkovodnim sredinama
- Podatke koji se tiču relativnog udela gljiva i bakterija u dekompoziciji potopljenog drveta i močvarnih makrofita
- Podatke o slatkovodnim gljivama iz polarnih i tropskih regiona
- Šira saznanja o tome kako hronično ili kratkotrajno obogaćivanje vodene sredine nutrijentima utiče na aktivnost gljiva
- Dodatne studije modelovanja za razumevanje uticaja globalnih klimatskih promena (temperature, padavina, porasta nivoa mora) na aktivnost vodenih gljiva.

7.5. Parazitske aktivnosti vodenih gljiva

Sve velike grupe slatkovodnih gljiva imaju vrste koje su paraziti drugih gljiva, algi, makrofita, beskičmenjaka, riba i vodozemaca. Aktivnosti parazitskih gljiva su važne za sva mikrostaništa unutar jezera, reka gde utiču na pelagijsku, bentosnu i litoralnu zonu. Zajedno sa virusima akvatične gljive imaju značajan uticaj na populaciju svih jezerskih biota i na interakciju unutar akvatičnih mreža ishrane. Aktivnost i stepen prilagođenosti parazitskih gljiva se kreće od nespecijalizovanih vrsta među akvatičnim hifomicetama do visoko specijalizovanih parazita beskičmenjaka i algi kod hitridomiceta.

7.5.1. Parazitske i predatorske hifomicete: gljive koje napadaju male životinje

Većina deuteromiceta su saprotrofi sposobni da razlažu biljni materijal koji je bogat celulozom ili ligninom sa malom količinom azota (visok odnos C:N). Za njihov rast i obavljanje životnih aktivnosti neophodna je određena količina azota. Neke vrste gljiva potrebu za azotom zadovoljavaju dodatnim izvorima hrane: vodeni beskičmenjaci i druge male životinje pokazujući prelaz od predatorstva (gde se životinje ubijaju pre transfera nutrijenata) do parazitizma (gde se neki nutrijenti usvajaju pre smrti organizma domaćina). Parazitske i predatorske hifomicete napadaju širok spektar različitih organizama uključujući bakterije, kopepode, amebe, ostale gljive i nematode.

Posebno detaljno su ispitivane gljive koje napadaju nematode. Kod tih vrsta gljiva konzumiranje dodatnog izvora hrane postalo je obligatno. Ovaj prelazak sa saprotrofizma na parazitizam (koji se desio tokom evolucije) povezan je sa gubitkom celulolitičke aktivnosti. Gljive koje napadaju nematode imaju dva različita životna stila. One su ili endoparaziti ili predatori.

7.5.1.1. Endoparaziti

Neki od ovih gljiva se pričvršćuju za površinu životinje blizu usnog otvora gde klijaju i invadiraju domaćina putem izduženih hifa. U drugim slučajevima životinje ingestiraju konidije koje klijaju u njihovom probavnom traktu. Rezultat u oba slučaja je rast micelije kroz telo nematode, uginuće organizma nakon čega se stvaraju konidije koje se rasprostiru sa površine nematode.

7.5.1.2. Predatorske gljive

Osim endoparazitskih vrsta koje uključuju klijanje spora i napad iznutra, ostale vrste gljiva "hvataju" njihov plen i tada dolazi do penetracije hifa u telo domaćina. Ove vrste stvaraju dobro razvijene, raširene micelije kojima hvataju plen na [različite načine](#) (konstriktivne i nekonstriktivne prstenaste hife, adhezivne grančice, lepljivi izraštaji). Ovakav životni stil nije zastupljen samo kod askomiceta već se nezavisno razvio kod bazidiomiceta i zigomiceta.

Vrste koje formiraju konstriktivni prsten poseduju ćelije koje se naduvaju veoma brzo kada nematoda prolazi i drže je sve dok hife ne invadiraju telo.

U drugim slučajevima lov se dešava adhezijom što uključuje stvaranje lepljive mreže hifa ili kod nekih predstavnika lepljivih nožica (bazidiomicete). Ovi lepljivi regioni nastaju lučenjem glikoproteina lektina na površini hifa kojima se pričvršćuju za površinu nematode. Gljive mogu da privuku nematode u micelijalni region i proizvedeći njihove

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

feromone. Kada je žrtva uhvaćena u klopku, hife gljiva je invadiraju i vare uz pomoć enzima.

7.5.2. Parazitske hitride: visoko specijalizovani paraziti slatkovodnih organizama

Mnoge hitride razvile su se kao visoko specijalizovani paraziti, razlikujući se od svojih saprotrofnih rođaka redukcijom pseudomicelijuma do izrazito rudimentarne strukture. Detaljno će se razmotriti dva primera parazitskih hitrida - *Coelomomyces* (parazit na beskičmenjacima) i *Rhizophydium* (koji inficiraju fitoplankton).

7.5.2.1. *Coelomomyces* - važan parazit slatkovodnih beskičmenjaka

Ovaj rod parazitskih gljiva prvobitno je otkriven 1921. godine u šupljini tela larve komaraca. Studije su od tada otkrile da su pripadnici ovog roda obligatni paraziti larvi hironomida i komaraca. Do sada je opisano oko 50 vrsta. Ove gljive su privukle posebnu pažnju kao agensi za biokontrolu komaraca zbog njihovog visokog stepena specifičnosti prema domaćinu i smrtnosti domaćina.

Pionirske studije Whisler et al. (1975) o vrsti *Coelomomyces psorophorae*, ustanovile su dve ključne činjenice: životni ciklus gljive karakteriše smena generacije i gljiva je raznorodna (heteroecka)- potrebna su joj dva potpuno različita domaćina u vodenom okruženju (komarac -diploidna faza i drugi kopepoda-haploidna faza). Otkrivanje heteroecizma je bilo od posebnog interesa, jer je ova pojava ranije bila poznata samo kod nekih predstavnika basidiomiceta.

Životni ciklus *Coelomomyces psorophorae*. Postoje dve pokretne zarazne faze, od kojih prva uključuje slobodno plivanje haploidnih (+ i -) mejotičkih spora. Nakon kontakta sa kopepodom, ove spore prodiru u hitinozne kutikule i stvaraju znatno smanjene + i - haploidne gametotaluse u hemocelu domaćina. Ovi talusi rastu unutar domaćina sazrevaju, stvaraju + i - gamete koji napuštaju domaćina neposredno pre njegove smrti. Fuzija gameta dešava se unutar i izvan domaćina i stvaraju se pokretni diploidni zigoti koji predstavljaju drugu zaraznu fazu. Kontakt ovih zigota sa larvama komaraca rezultuje encistiranjem, nakon čega sledi razvoj struktura za pričvršćivanje (aprosorije) i penetracijskih cevi. Poslednja faza rasta se dešava kroz kutikulu larve, gde ulazi u donju epidermalnu ćeliju i dovodi do prolaska gljivičnog protoplasta u ovu ćeliju. Gljivični protoplast se potom razvija u sporotalus koji ulazi u hemocel, gde se umnožava da bi formirao diskretne jedinice poznate kao hifalna tela (hifina tela). Ona rastu i razvijaju se u diploidni micelijum koji na kraju stvara mirujuću sporangiju. Ove sporangije proizvode se u tolikom broju da skoro u potpunosti ispunjavaju umiruću larvu. Dezintegracijom larvi mirujuće sporangije dospevaju u okolnu vodenu sredinu. Pod odgovarajućim uslovima

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

one prolaze mejozu, što dovodi do oslobađanja brojnih haploidnih pokretnih spora koje mogu da inficiraju domaćina kopepoda.

7.5.2.2. *Rhizophyidium* -glavni parazit fitoplanktona

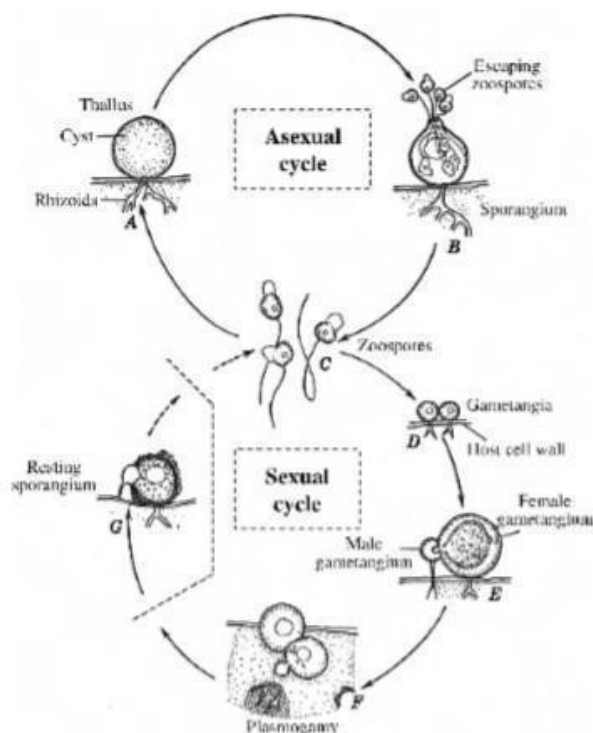
Parazitska uloga vodenih gljiva posebno je značajna u odnosu na njihov uticaj na planktonske alge. Infekcija obično dovodi do smrti ćelije domaćina i predstavlja primer letalnog parazitizma. Ove gljive mogu imati veliki uticaj na rast algi, smanjujući primarnu produkciju i jedan su od glavnih uzročnika smanjenja populacije fitoplanktona.

Hitride su posebno važne kao paraziti algi i uključuju vrstu *Rhizophyidium planktonicum* - koja inficira širok spektar algi (Van Donk i Bruning, 1992). Ekološki uspeh ovih r-selektivnih parazita (Burdon, 1992) leži u njihovoj relativno jednostavnoj vegetativnoj fazi (uz brzo iskorišćavanje hranljivih materija iz algi) i proizvodnji velikog broja pokretnih zoosporea sposobnih da zaraze nove alge u različitim delovima vodenog stuba. Strategija kratke vegetativne faze i pojačane faze širenja naročito je relevantna za infekciju planktonskih algi, jer ovi organizmi često pokazuju brze promene u populaciji koje uspešni parazit treba da iskoristi u kratkom vremenu.

Tipični životni ciklus hitrida kao što je *Rhizophyidium* (slika 7.4) sastoji se od dva dela, vegetativne i polne (seksualne faze). Razvoj i napredovanje infekcije u celoj populaciji fitoplanktona uključuje vegetativnu fazu. Širenje infekcije dešava se haploidnim aseksualnim zoosporama, koje se pričvršćuju na nove ćelije domaćina i razvijaju se u jednostavno vegetativno telo ili talus. Ova struktura se sastoji od loptaste ciste sa rizoidima, koji se razvijaju u ćeliji domaćina i apsorbuju hranjive materije. Nakon perioda rasta i proširenja, cista koja se formira van ćelije se diferencira u sporangiju, čiji se sadržaj deli mitozom da bi formirao brojne zoospore. Sporangija puca oslobađajući pokretne zoospore koje migriraju kroz vodenu sredinu da bi inficirali nove ćelije domaćina. Lokacija novih ćelija domaćina u mešovitoj populaciji fitoplanktona mora uključivati precizan proces prepoznavanja, jer su sojevi *R. planktonicum* specifični u odnosu na domaćina. Različite karakteristike vegetativnog ciklusa, na koje utiču parametri životne sredine, određuju brzinu i stepen gljivične infekcije u populaciji fitoplanktona.

Seksualna faza životnog ciklusa obično se javlja na kraju epidemije, kada je potencijal za dalji razvoj gljiva ograničen. Infekcija zoospore dovodi ovom prilikom do stvaranja seksualnih reproduktivnih tela (gametangija) koje se ne pretvaraju u pojedinačne gamete. Prostorno bliske kompatibilne gametangije se spajaju procesima plazmogamije i kariogamije. Nakon gametangiogamije stvara se zigot odnosno mirujuća ili trajna spora. Trajna spora klija uz redukcionu deobu stvarajući haploidne zoospore čime se i završava životni ciklus ove parazitske gljive (Slika 7.4).

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta



Slika 7.4 Opšta šema životnog ciklusa parazitskih gljiva iz klase Chytridiomycetes: diploidna faza životnog ciklusa (levo od isprekidane linije) stvara brojne zoospore. Studije hitridne infekcije planktonskih algi koncentrisane su posebno na *Asterionella formosa* i *Rhizophyidium planktonicum*, ali ostale proučavane kombinacije uključuju *Asterionella/Zygorhizidium*, *Oocystis/Chytridium deltanum* i *Pandorina/Dangardia mammillata* (slika preuzeta od Alexopoulos, 1962, uz odobrenje John Wiley & Sons)

7.5.3. Gljivične epidemije u kontroli populacije fitoplanktona

Gljivične epidemije mogu se definisati kao eksponencijalno i nekontrolisano širenje gljivične infekcije kroz populaciju domaćina. Zbog specifičnosti prema domaćinu, epidemija planktonskih algi je naglo širenje gljiva unutar populacije jedne vrste koja se širi unutar mešovite populacije fitoplanktona.

7.5.3.1 Ekološki značaj

Ekološki značaj gljivičnih epidemija u ograničavanju brojnosti populacije fitoplanktona prvo su kvantitativno procenili Canter i Lund (1948, 1951, 1953), koji su proučavali hitridne infekcije čitavog niza dijatomeja (*Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis*, *Tabellaria fenestrata* i *Aulacoseira*). U svim slučajevima primećeno je da ove gljivične infekcije uzrokuju smrt ćelija domaćina i da ograničavaju rast populacije fitoplanktona. Za

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

mnoge hitride pokazalo se da imaju veliku specifičnost prema određenim vrstama, parazitirajući samo jednu vrstu ili malu grupu srodnih vrsta domaćina. Osim dijatomeja, epidemije su zabeležene i kod drugih grupa algi: modro-zelene (Cyanobacteria), zlatne (Chrysophyta), vatrene (Dinoflagellata (Pyrrhophyta)) i zelene alge (Chlorophyta) od strane monoflagelatnih (hitride) ili biflagelatnih (Oomycetes) gljiva (Van Donk i Bruning, 1992, 1995).

Gljivični parazitizam može biti važan faktor u kontroli sezonske sukcesije fitoplanktona (Van Donk, 1989), jer infekcija jedne vrste algi može pogodovati razvoju drugih. U drugim slučajevima, efekat parazitskih infekcija zasnovan na interspecijskoj kompeticiji može promeniti ravnotežu populacija, a da ne utiče na sezonski obrazac sukcesija. Ovo se posebno odnosi na alge poput roda *Desmidiium* (Canter i Lund, 1969), koje ne dominiraju u zajednici fitoplanktona i gde parazitizam samo smanjuje njihov proporcionalni udeo u odnosu na populacije ostalih vrsta.

Iako se proces infekcije populacije algi može činiti jednostavnim, malo se zna o mehanizmu započinjanja epidemije. Posebno otežavajući faktori u interakciji domaćin-parazit su:

- preosetljivost domaćina na infektivne zoospore - ovaj "mehanizam otpornosti" za populaciju algi uključuje brzu smrt ćelije fitoplanktona domaćina nakon kontakta sa zoosporama, sprečavajući razvoj i širenje infekcije;
- hiperparazitizam, gde je gljivični parazit algi i sam zaražen drugom gljivom.

7.5.3.2. Neto efekat zaraženih i nezaraženih ćelija domaćina

Relativni uticaji zaraženih i nezaraženih ćelija algi na razvoj fitoplanktonske zajednice mogu se razmotriti u odnosu na mešovitu populaciju fitoplanktona i u odnosu na populaciju samo jedne vrste.

7.5.3.3. Infekcija unutar mešovite populacije fitoplanktona

Specifičan odnos domaćin-parazit podrazumeva da je prisustvo i širenje određenog soja gljiva ograničeno na jednu vrstu domaćina u mešovitoj populaciji. Poznato je da je u terestričnim biljnim zajednicama, širenje infekcije specifične za vrstu unutar homogenih populacija (monokulture) znatno brže nego u mešovitim zajednicama i to zbog smanjene blizine izvora infekcije (Sigee, 1993). Ovaj princip se može podjednako primeniti na infekcije hitridima u mešovitim populacijama fitoplanktona, a u tom slučaju će udeo ukupnog fitoplanktonskog biovolumena koji zauzima jedna vrsta biti značajno merilo sposobnosti širenja infekcije.

Infekcije pojedinih vrsta algi mogu se razviti kada one zauzimaju prilično nizak deo ukupne populacije fitoplanktona. Poslednje istraživanja Holfelda (2000) pokazala su da se

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

infekcije šire u populaciji algalnog domaćina koji zauzima <1 % ukupnog biovolumena fitoplanktona. Premda je kod većine ispitivanih vrsta otkriveno da su inficirane ćelije uvek pronađene kod algi koje su zauzimale veći udeo od pomenutog.

7.5.3.4. Infekcija unutar populacije pojedinačne vrste

Gljivična infekcija ćelija algi narušava fiziološke procese, inhibira rast i izaziva smrt ćelije. U bilo kojem trenutku inficiran je samo jedan deo ćelija unutar populacije jedne vrste, a neto rezultat gljivične infekcije na rast celokupne populacije zavisi od ravnoteže između neto rasta neinficiranih ćelija i gubitka zaraženih ćelija. Ova situacija je dijagramski prikazana na slici 7.6, gde odgovarajući faktori porasta (rast i deoba) i gubitaka (ispaša, sedimentacija) zaraženih i neinficiranih ćelija odvojeno doprinose ukupnim promenama populacije algi. Dugoročne promene populacije algi zavisice od buduće ravnoteže između zaraženih i neinficiranih ćelija, što zavisi od stope infekcije.

Stanje infekcije u bilo kom trenutku i uticaj gljivičnog parazita na rast algi mogu se sagledati kao:

- procenat zaraženih ćelija algi,
- odnos između aktuelne biomase populacije algi i predviđenog nivoa biomase neinficirane populacije.

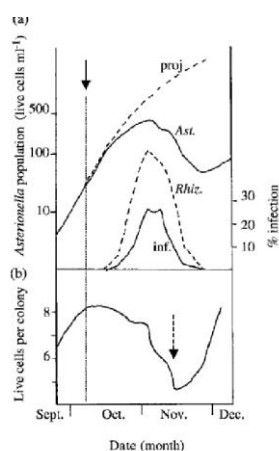


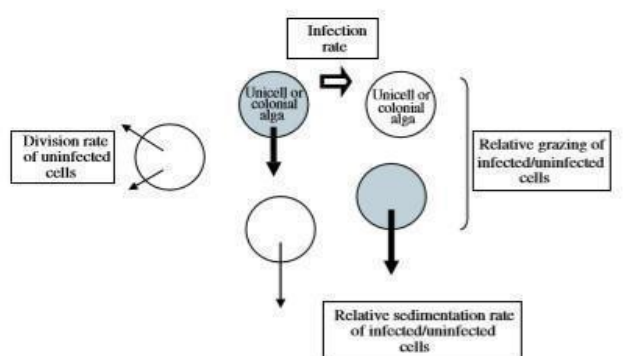
Figure 8.9 Infection of *Asterionella* by *Rhizophidium*. (a) Population changes. Showing changes in the actual population of *Asterionella* (Ast.), projected (proj.) population without fungal infection, population of *Rhizophidium* (Rhiz.), and percentage infection (inf.) of *Asterionella* by live *Rhizophidium*. (b) *Asterionella* colony changes. Showing the average number of live *Asterionella* cells per colony. The vertical line (solid arrow) marks the onset of fungal infection in early October. Major flooding (broken arrow) commenced in mid-November (based on a figure from Lund, 1949)

Slika 7.5 Infekcija alge roda *Asterionella* od strane gljive iz roda *Rhizophidium*- Promene u populaciji pokazuju promene u posmatranoj populaciji alge: (proj.) – predviđena odnosno projektovana brojnost bez gljivične infekcije; (Ast.) populacija alge; (Rhiz.) populacija gljive; (inf.) procenat inficiranih; b) broj živih ćelija u koloniji alge. Vertikalna neisprekidana linija označava početak gljivične infekcije.

Procenat infekcije je lako odrediti i taj podatak pruža korisne informacije o širenju zaraze u populaciji algi. Takođe je u korelaciji sa prolaznim promenama populacije domaćina i parazita, kao što se vidi na slici 7.5 (infekcija alga/gljiva *Asterionela/Rhizophydidium*). Iako se procenat infekcije može lako utvrditi, ipak daje malo informacija o dinamičkom stanju

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

infekcije. Poređenje stvarne i projektovane populacije algi pruža korisniji pregled uticaja gljivične infekcije i obuhvata sve dinamičke aktivnosti sažete na slici 7.6. Projektovana populacija algi može se proceniti ekstrapolacijom krive rasta algi pre gljivične infekcije i direktno uporediti sa stvarnom populacijom algi u bilo kom trenutku - kao što je prethodno prikazano u studiji slučaja o infekciji *Asterionela/Rhizophyidium*. (slika 7.5).



Slika 7.6 Efekat gljivične infekcije na promene populacije pojedinih vrsta algi u fitoplanktonu jezera: zaražene alge (zasenčeni krugovi) i nezaražene alge (otvoreni krugovi)

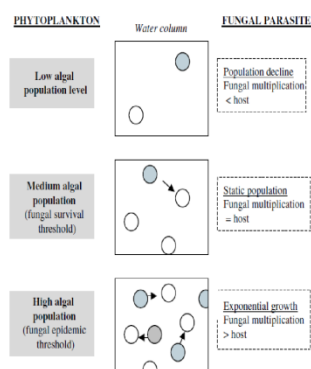
7.5.4. Faktori koji utiču na razvoj gljivične infekcije

Glavni faktori koji utiču na razvoj gljivične infekcije su: gustina populacije domaćina, relativna stopa rasta domaćina/parazita, reproduktivni parametri gljiva i uticaj životne sredine.

7.5.4.1. Gustina populacije domaćina

Razvoj i rast gljivičnih populacija unutar vodenog stuba zavisi od kritične brojnosti populacije algi domaćina (broj ćelija algi/1ml). Kod niske gustine algi, ćelije domaćina su prilično udaljene što sprečava efikasnu migraciju zoospora i uspostavljanje novih infekcija koje su potrebne za održavanje kontinuirane populacije gljive (slika 7.7). Pod ovim uslovima razmnožavanje gljive je manje nego razmnožavanje domaćina i parazit ne može da održi stabilnu populaciju. Povećanjem populacije algi dostiže se kritični prag (prag preživljavanja) na kojem je gljivični parazit u stanju da održi stabilnu populaciju. U ovoj situaciji najmanje jedna od ukupnog broja proizvedenih zoospora po sporangiji može uspešno da inficira novu ćeliju domaćina. Dalje povećanje populacije algi dovodi do kritične tačke (prag epidemije) u kojoj se populacija gljiva eksponencijalno povećava, što rezultira gljivičnom epidemijom (Slika 7.7).

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta



Slika 7.7 Odnos brojnosti populacije algi i razvoja populacije gljiva: gljivična infekcija (strelice) neinficiranih ćelija (otvoreni krugovi) od zaraženih ćelija (zasenčeni krugovi) prikazana je na različitim nivoima populacije algi

Razmnožavanje gljiva je značajno uspješnije od rasta algi i brzo se širi po celoj populaciji fitoplanktona. Prag preživljavanja i epidemije algi nisu standardni, već variraju u zavisnosti od vrste gljiva i od određene brzine rasta algi i gljiva u bilo kom trenutku. Iako su vrednosti praga epidemije prilično visoke, gljivične epidemije se mogu pojaviti i pri relativno niskoj gustini algi. Na primer, kod prirodnih populacija dijatomeja *Asterionella formosa* primećene su gljivične epidemije čak i pri gustini do $10 \text{ ćelija} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Lund, 1957).

7.5.4.2. Relativne brzine rasta domaćina/ parazita

Brzina širenja (df/dt) gljivične infekcije u populaciji algi zavisi od relativnih stopa rasta domaćina i parazita (Bruning, 1991a), gde:

$$df/dt = f \cdot (\mu_p - \mu_h)$$

f - udeo zaraženih ćelija algi,

μ_p - specifična brzina rasta parazita,

μ_h - specifična brzina rasta domaćina algi

Gornja jednakost pokazuje da je za razvoj epidemije potrebna veća stopa rasta parazita u poređenju sa domaćinom i da će bilo koji faktor spoljašnje sredine posredno preko stope rasta uticati na razvoj epidemije.

Značaj gustine populacije domaćina u određivanju stope rasta gljiva prethodno je naveden (slika 7.7). Maksimalna brzina rasta gljive (μ_{pmax}) nastaje pri visokoj koncentraciji domaćina i zavisi od brzine stvaranja zoospora. Kada je $\mu_h > \mu_{pmax}$, alga preraste gljivu i razvoj epidemije je nemoguć - čak i ako su uslovi za gljivičnu infekciju izuzetno povoljni.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Iako je za epidemiju neophodno da parazit „preraste“ domaćina, potreban je i aktivni rast populacije algi. Nedavna terenska istraživanja Holfelda (2000) pokazala su da je porast inficiranih ćelija fitoplanktona obično povezan sa rastućom populacijom domaćina i da su uslovi opadanja algi često bili u korelaciji sa maksimalnim ili opadajućim nivoom infekcije.

7.5.4.3. Reproductivni parametri gljive

U životnom ciklusu hitrida postoje četiri reproduktivna parametra koji utiču na razvoj infekcije gljiva u populaciji algi. To su: vreme potrebno za razvoj zrele sporangije od početne ciste, prosečni broj proizvedenih zoospora po sporangiji, dužina vremena u kojem slobodne zoospore ostaju zarazne u vodenom medijumu (životni vek infekcije) i sposobnost zoospora za uspostavljanje infekcije nakon ostvarenog kontakta sa ćelijom domaćina (zaraznost).

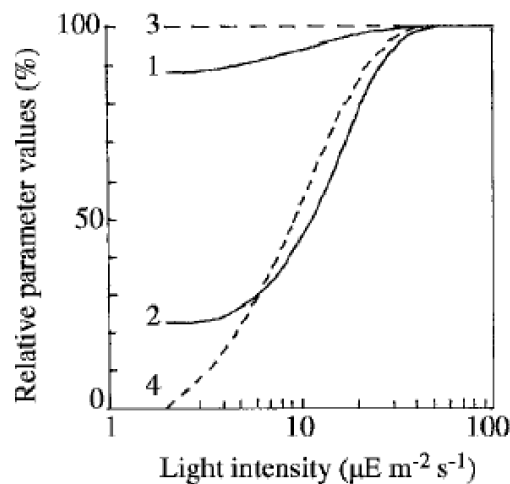


Figure 8.13 Effects of light on the growth parameters of the *Asterionella* parasite *Rhizophyidium planktonicum*.

Differences in light intensity have major effects on the number of zoospores produced per sporangium (2) and the infectivity of zoospores (4), but much less influence on sporangium development time (1) and the infective lifetime of zoospores (3). The specific growth rate of the host (*Asterionella*) closely follows the trace of (4) (figure taken from Van Donk and Bruning, 1992, with permission from Biopress Ltd.)

Slika 7.8 Uticaj svetla na parametre rasta alge *Asterionella* i parazitske gljive *Rhizophyidium planktonicum*. Razlika u intezitetu svetla ima veliki uticaj na broj zoospora po sporangiji (2) i infektivnost zoospora (4), ali mnogo manji uticaj na vreme potrebno za razvoj sporangije (1) i infekciono vreme zoospora (3). (Relativne vrednosti parametara (%), Intezitet svetla $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$).

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Ovi reproduktivni parametri variraju u zavisnosti od fiziološkog stanja domaćina i parazita, a na njih snažno utiču fizički aspekti okoline kao što su svetlo i temperatura. Na primer, povećanje intenziteta svetlosti ima veliki uticaj na broj zoospora, po sporangiji, infektivnost zoospora i vreme razvoja sporangije (Slika 7.8).

7.5.4.4. Ekološki uticaj na interakciju domaćin / parazit

Širok spektar faktora životne sredine utiče na rast gljiva u populaciji fitoplanktona i na razvoj gljivične epidemije (Van Donk i Bruning, 1992). Oni uključuju indirektne faktore koji odvojeno utiču na populaciju algi (npr. dostupnost hranljivih materija, konkurencija algi) i populaciju gljiva (npr. ispaša gljiva), kao i faktore koji direktno utiču na interakciju domaćin/parazit.

Intenzitet svetlosti, dostupnost hranljivih materija i temperatura imaju direktan uticaj na parazitski proces, utičući na brzinu rasta algi (μ_h) i gljiva (μ_p), fiziološko stanje domaćina i parazita i karakteristike ključnih parametara u životnom ciklusu.

Intenzitet svetlosti. Moglo bi se očekivati da će uslovi slabog intenziteta svetlosti promovisati širenje gljivične infekcije unutar populacije algi usled smanjenja stope rasta algi. Međutim, veći broj studija je pokazao da ograničenje svetlosti smanjuje brzinu rasta gljive utičući na različite faze ciklusa rasta.

Studije o infekciji *Asterionella/Rhizophyidium* (Bruning, 1991a) pokazale su da slabo osvetljenje uzrokuje značajno smanjenje broja proizvedenih zoospora po sporangiji i infektivnost zoospora, ali ima malo uticaja na vreme razvoja sporangije i nema značajnijeg uticaja na životni vek zoospora (slika 7.8). Važnost svetlosti za infektivnost zoospore je posebno zanimljiva. Studije o suspenzijama zoospora bez domaćina pokazale su potpuni prestanak pokretljivosti ispod kritičnog intenziteta svetlosti. Različiti autori su takođe zasebno konstatovali odsustvo pričvršćivanja zoospora i neuspešno klijanje u potpunoj tami.

Ukupni efekat slabog intenziteta svetlosti na širenje infekcije zavisice od toga koja brzina rasta ima veće smanjenje - μ_h ili μ_p . Ovo je istraženo pri različitim intenzitetima svetlosti određivanjem minimalne gustine ćelija algi (*Asterionella*) neophodnih za preživljavanje gljiva (*Rhizophyidium*) (prag preživljavanja) i razvoj epidemije (prag epidemije) (Slika 7.9).

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

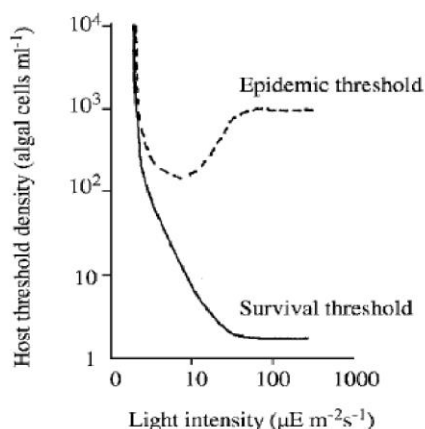


Figure 8.14 Effects of light intensity on host threshold densities for infection by the *Asterionella* parasite *Rhizophyidium planktonicum*.

Host threshold densities for fungal survival and epidemic development both vary with light intensity (figure taken from Van Donk and Bruning, 1992, with permission from Biopress Ltd.)

Slika 7.9 Uticaj inteziteta svetla na vrednosti praga preživljavanja i praga epidemije na primeru infekcije alge *Asterionella* i parazita *Rhizophyidium* (preuzeto iz Sigee, 2005) (slika preuzeta iz Van Donk and Bruning, 1992)

Opstanak gljiva. Gustina naseljenosti ćelija algi koja je potrebna za preživljavanje gljiva (prag preživljavanja) dramatično opada kako se intenzitet svetlosti povećava u rasponu od 2–50 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Slika 7.9). U pogledu preživljavanja gljiva, smanjena svetlost menja ravnotežu domaćin-parazit u korist domaćina algi, a čini se da je to posebno povezano sa svetlosnom limitiranošću ćelija domaćina (Bruning, 1991a). Zašto hitridna gljiva zahteva veću gustinu algi za preživljavanje u uslovima ograničavanja svetlosti nije sasvim jasan? Razlog tome može biti niži nivo fotosintetskih proizvoda algi koji ograničavaju ključne gljivične procese razvoja sporangija i rane infektivnosti zoospore.

Odsustvo gljivične infekcije pri svetlosnom intenzitetu ispod 2 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ekološki je značajno jer će ovaj nivo svetlosti i dalje podržavati rast algi. To znači da u prirodnim uslovima deo populacije domaćina može biti prostorno zaštićen od napada parazita. Dublji slojevi u vodenom stubu mogu pružiti važno utočište ćelijama algi, dozvoljavajući domaćinu i parazitima da koegzistiraju u istom vodenom telu.

Razvoj epidemije- Pretpostavka je da je efekat svetlosti na razvoj epidemije sasvim drugačiji i složeniji nego za preživljavanje gljiva. Sa interakcijom *Asterionella/Rhizophyidium*, prag epidemije ima minimalnu vrednost pri intenzitetu svetlosti od oko 10 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, povećavajući se sa većim intenzitetom svetlosti (Slika 7.9). Ovi rezultati sugerišu da izazivanju gljivične epidemije pogoduju uslovi umerenog ograničenja svetlosti, iako je rast gljiva u takvim uslovima smanjen.

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

Ograničenje hranljivih sastojaka- Promene u dostupnosti hranljivih sastojaka mogu imati znatan uticaj na ravnotežu odnosa domaćin-parazit. U slučaju interakcije *Asterionella/Rhizophyidium* (Bruning, 1991b), nedostatak fosfora smanjuje stopu rasta oba organizma. Dva glavna efekta su smanjila rast gljiva:

- Fosforom limitirane ćelije domaćina su manje podložne infekciji zoosporama u poređenju sa algalnim ćelijama bez ograničenja;
- sporangije gljiva na algama u uslovima limitiranosti fosforom imale su isto vreme razvoja kao i ćelije domaćina bez limitiranosti, ali su proizvele manje zoospora.

Uprkos ovim ograničenjima za parazita, proizvodnja zoospora ostala je dovoljno visoka za održavanje rasta gljiva na višem nivou od algi i ustanovljeno je da limitacija fosforom alge *Asterionella formosa* pogoduje razvoju epidemije *Rhizophyidium planktonicum*. Pod takvim uslovima interakcija *Asterionella/Rhizophyidium* (Bruning, 1991b), gustina populacije domaćina na kojoj bi mogla da se pojavi epidemija (prag epidemije) smanjena je za faktor 2,5.

Temperatura- Različiti istraživači su primetili da temperatura može biti važan faktor u pojavi i razvoju gljivičnih parazita. Situacija je složena jer snižavanje temperature ispod optimalnih nivoa smanjuje stopu rasta i domaćina i parazita.

Kod infekcije *Asterionella/Rhizophyidium* (Bruning, 1991c) vreme razvoja sporangije povećavalo se na niskim temperaturama. To je samo delimično nadoknađeno povećanim brojem zoospora po sporangiji i povećanim životnim vekom zoospora. Kao rezultat, maksimalna brzina rasta gljive bila je manja od algi ispod 5° C, smanjujući potencijal za razvoj epidemije. Niska temperatura može takođe pokrenuti prekid parazitskog vegetativnog rasta i dovesti do stvaranja otpornih aseksualnih ili seksualnih spora.

Inhibicija razvoja gljivične epidemije na niskim temperaturama primećena je u prirodnim uslovima (Van Donka i Ringelberga (1983)). Uslovi ledenog pokrivača (bez snega) na jezeru Maarsseveen (Holandija) poklopili su se sa periodima inhibicije rasta hitrida *Rhizophyidium planktonicum* parazita dijatomeja *Asterionella formosa*. U tim uslovima, domaćin, *Asterionella* je bila bez napada gljiva, ali je imala odgovarajuće uslove svetlosti, temperature i hranljivih sastojaka da joj omogući rast i nadmetanje sa drugim vrstama dijatomeja.

Literatura

1. Gulis, V., K.A. Kuehn, K. Suberkropp, Fungi, Editor(s): Gene E. Likens, Encyclopedia of Inland Waters, Academic Press, 2009, Pages 233-243, ISBN 9780123706263, <https://doi.org/10.1016/B978-012370626-3.00129-0> .

7. Akvatična biota sa micelijalnom formom rasta

2. <https://nsfpeet.as.ua.edu/Teaching%20with%20Basal%20Fungi%20lab.htm>
3. <https://nsfpeet.as.ua.edu/Rhizophydiales%20NSF%202010/Rhizophydium%20Test%20Site/Rhizophydium%20home%20life%20history%20schemes.html>

Use ECOBIAS logo pattern if applicable as table background (not mandatory)

8. ULOGA PROTOZOA U SLATKOVODNIM SREDINAMA

Na mikro nivou ispaša u slatkovodnim sistemima uključuje uklanjanje i konzumaciju suspendovanog materijala, uključujući organske supstance i žive organizme. Ovaj posao obavljaju jednoćelijski i višećelijski organizmi (protozoe i beskičmenjaci). Ispaša je važan aspekt akvatične mikrobiologije jer je bitan faktor u kontroli mikrobnih populacija kao i važan put u transportu biomase u lancu ishrane. Ovo poglavlje se prvenstveno bavi ulogom protozoa u slatkovodnim ekosistemima, uključujući njihov biološki diverzitet, adaptacije na životnu sredinu i načine ishrane – što primarno podrazumeva konzumaciju algi i bakterija.

8.1. Uvod

Protozoe su važni konzumenti organskog materijala i mikroorganizama u mnogim prirodnim slatkovodnim ekosistemima i antropogenim akvatičnim sistemima od ekonomskog značaja kao što su postrojenja za obradu otpadnih voda. Što se tiče njihove ishrane, u većini ovih sredina protozoe su u kompeticiji sa drugim organizmima (višećelijski beskičmenjaci). Relativni uticaj ispaše ove dve grupe organizama se može razmatrati u pogledu transfera biomase i načina ishrane.

8.1.1. Relativni značaj protozoa, rotifera i ljuskara u pelagijalnim zajednicama

Iako su u ranijim istraživanjima slatkovodnih ekosistema protozoe zanemarivane, njihovom značaju u pelagijskim i bentosnim mrežama ishrane pridaje se sve veća pažnja. Biologija takvih staništa ne može biti odgovarajuće opisana ako se ne uzme u obzir i zajednica protozoa. U pelagijskim zajednicama protozoe su često bile isključivane iz studija o ispaši organskog i mikrobiološkog materijala jer su rotifere i ljuskari smatrani važnijim u smislu gustine populacije, ukupne biomase, produktivnosti, stepena ispaše, i regeneracije nutrijenata (Pace i Orcutt, 1981). Protozoe zahtevaju metode prikupljanja koje se često razlikuju od onih kojima se prikuplja makrozooplankton. One se ne mogu sakupljati standardnim mrežicama za zooplankton (otvori su 64 μm ili veći) niti mrežicama predviđenim za rotifere (35 μm). Kao rezultat toga informacije o planktonskim protozoama su često sporadične i nepotpune. Mnoge studije o protozoama su ograničene na kratke intervale u godišnjem ciklusu, na samo određene dubine i nisu vezane za ukupnu zooplanktonsku zajednicu.

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Istraživanja koja uključuju analizu i mikrozooplanktona (protozoa) i makrozooplanktona su pokazala koliko je ishrana protozoa bitna u slatkovodnim zajednicama. Istraživanja od strane Pace i Orcutt-a (1981), na primer, ukazuju na to da su protozoe (cilijate i amebe) dominirale u zooplanktonskoj zajednici jezera Oglethrope (SAD) koje spada u topla monomiktična jezera. Tokom zimskog mešanja vode, zabeležena je brojnost od $1-8 \cdot 10^3 \text{ l}^{-1}$ cilijatnih protozoa koje su činile oko 32% zooplanktonske biomase. U vreme letnje stratifikacije, brojnosti populacija račića su opadale, dok se zastupljenost protozoa i rotifera značajno uvećala. Cilijatne protozoe su dostigle naročito visok porast populacije ($1-2 \cdot 10^5 \text{ l}^{-1}$) u metalimnionu odnosno u zoni intenzivne bakterijske aktivnosti. Tokom perioda visoke brojnosti cilijata (Jul – Oktobar), protozoe su činile 15-62% zooplanktonske biomase i značajno doprinosile ispaši mikroorganizmima u pelagijskim ekosistemima.

8.1.2. Ekološka uloga protozoa

Kao konzumenti, protozoe su naročito važne u ingestiji bakterija i algi i važne su u brojnim relacijama koje postoje u slatkovodnim sistemima kao što su:

- Mikrobiološka petlja, povezujući produkciju rastvorenog organskog ugljenika i bakterijske populacije sa zooplanktonom,
- Veza između organske rastvorene materije i viših organizama,
- Kontrola populacije algi i bakterija,
- Recikliranje neorganskih nutrijenata
- Kruženje ugljenika

8.2. Protozoe, alge i nedeterminisane grupe

Protozoe su jednoćelijski eukarioti. Zajedno sa jednoćelijskim algama i sluzavim gljivama čine carstvo protista. Kod protozoa funkcije celog organizma – ishrana, transformacija energije, osetljivost, pokretljivost i strukturalna potpora obavlja samo jedna ćelija. Slične su algama po velikoj raznovrsnosti ćelijske građe, što je u skladu sa različitim evolucionim linijama unutar grupe. Međutim, protozoe se razlikuju od algi u mnogo važnih aspekata:

Pokretljivost - iako je dosta protozoa trajno vezano za podlogu (sesilne vrste), pokretne (pelagijske) protozoe se skoro sve aktivno kreću. Ovo je u surotnosti sa pelagijskim algama, od kojih su mnoge nepokretne (dijatomeje) ili su plutajuće nošene strujanjem vode (modro-zelene alge).

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Ćelijski zid - Mnoge alge imaju čvrst ćelijski zid, što je važno za održavanje oblika ćelije u hipoosmotskim slatkovodnim sredinama. Većina protozoa nema čvrst ćelijski zid, a svoj osmotski integritet održava aktivnošću kontraktilne vakuole.

Alge su većinom autotrofne, dok su protozoe tipični **heterotrofi**.

Protozoe se od algi primarno razlikuju zbog njihove heterotrofne ishrane dobijajući energiju i nutrijente iz složenih organskih molekula koji se pojavljuju kao rastvoreni ili u vidu čestica. Ove dve grupe organizama se mogu razlikovati po prisustvu odnosno odsustvu hlorofila. Međutim, ova razlika između heterotrofnih protozoa i autotrofnih algi nije uvek jasno uočljiva. Recimo, dinoflagelate imaju predstavnike koji su uglavnom heterotrofi, ali i one koji su uglavnom autotrofi. Neki organizmi imaju sposobnost da menjaju metabolizam iz autotrofnog u heterotrofni u zavisnosti od uslova sredine. Osim toga pojedine protozoe mogu da grade poseban vid simbioze sa algama. One unose hloroplaste ili kompletne fotosintetske alge u svoju citoplazmu, pri čemu alge u toj situaciji nastavljaju dalje da vrše fotosintezu.

Razlikovanje protozoa i algi je veoma problematično kod predstavnika koji imaju flagele i određenih grupa koje sadrže zelene i bezbojne predstavnike. Tri grupe flagelata – dinoflagelate, kriptomonade (Cryptomonadina) i hrizofite (Chrysophyta) se proizvoljno svrstavaju u alge i to najviše zbog toga što su ovi organizmi uglavnom fototrofi. Heterotrofne flagelate su raznovrsna grupa organizama, uključujući organizme u navedenim grupama koji su izgubili hlorofil i postali sekundarno heterotrofni kao i organizmi koji se smatraju „pravim“ protozoama.

8.3. Taksonomski diverzitet protozoa u slatkovodnim sistemima

Slobodnoživeće protozoe se mogu podeliti u tri glavne grupe – cilijate, flagelate i ameboidne forme. Ove grupe se najviše razlikuju po načinu kretanja, ali se razlikuju i po unutrašnjim ćelijskim strukturama, načinu ishrane i veličini ćelije.

8.3.1. Cilijate

Cilijate su veoma uspešna grupa mikrokonzumenata prisutnih u većini slatkovodnih ekosistema. Kreću se cilijama koje su po strukturi identične flagelama, ali su kraće i najčešće mnogobrojne. Cilije se takođe razlikuju od flagela po načinu pomeranja. One koje se pojavljuju u longitudinalnim brazdama koji se nazivaju kineti u jednom delu životnog ciklusa, uzrokuju proticanje vode paralelno ćelijskoj površini – što je važno za kretanje i ishranu. Velike dimenzije cilijata u odnosu na druge protozoe (dužina kod

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

većine iznosi 20-200 μ m), zajedno sa njihovom rasprostranjenošću, aktivnim kretanjem, varijabilnošću oblika, govori da su ovi organizmi česte i najuočljivije protozoe prilikom mikroskopiranja sredinskih uzoraka.

8.3.1.1. Diverzitet cilijata i njihove adaptacije u slatkovodnim sistemima

Neke od glavnih taksonomskih grupa kod cilijatnih protozoa pokazuju različite evolucione strategije u akvatičnim ekosistemima u smislu mikrostaništa (planktonske ili bentosne), načinu života (pokretne, plutajuće ili sesilne) i načinu ishrane (filtraciono ili aktivno predatorski) (Tabela 1). Ove adaptivne strategije uključuju i istaknute evolutivne modifikacije koje podrazumevaju promene u cilijarnim aparatima. Najjednostavniji i najprimitivniji oblik je kad cilije okružuju celu ćeliju i kad su primarno uključene u lokomociju. Iako mnoge protozoe kao što je *Paramecium* još uvek poseduju ovu osobinu, takođe pokazuju razne adaptacije njihovog cilijarnog aparata. Ove organele su postale modifikovane i specijalizovane za lokomociju i ishranu na dva glavna načina:

Cilije u blizini usnog otvora (bukalne cilije) su specijalizovane za ishranu. Kod Oligohymenophora linija cilija u blizini citostoma (usta) su postale specijalizovane kao „talasasta membrana“ i služe za presretanje čestica koje nosi vodena struja. Cilije na površini ćelije (somske cilije) su specijalizovane za lokomociju.

Tabela 29 Glavne grupe slobodnoživećih cilijatnih protozoa

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Group	Examples	Motility and microhabitat	Food
<i>Colpoids</i> . Mostly filter-feeders, using tightly packed cilia grouped around the mouth	<i>Bursaria</i> <i>Cyrtolophosis</i>	Motile – many planktonic	Large food particles such as algae – dinoflagellates, diatoms
<i>Cyrtophores</i> . Have a cluster of strongly developed microtubular rods (nematodesmata) supporting the oral structure	<i>Nassula</i> <i>Pseudo-microrhax</i>	Motile – planktonic	Often larger algae such as diatoms and filamentous blue-greens
<i>Haptorids</i> . Flattened scavenging or predatory ciliates with killing or holding extrusomes [†] around the mouth region	<i>Amphileptus</i> <i>Loxophyllum</i>	Motile – many present on benthic substrates	Other protozoa
<i>Oligohymenophora</i> . Specialized buccal ciliature comprising three membranelles and an undulating membrane			
(a) Hymenostomes: short membranelles and undulating membrane	<i>Colpidium</i> <i>Tetrahymena</i>	Motile – often present in substrate detritus	Typically bacteria
(b) Peritrichs: buccal ciliature forms one or more wreaths around the anterior part of the cell	<i>Vorticella</i> <i>Ophyridium</i> *	Non-motile, sessile – attached via stalk	Typically bacteria
(c) Peniculines: elongate membranelles, weakly developed undulating membrane Star-shaped contractile vacuole complexes	<i>Paramecium</i> * <i>Frontonia</i> *	Motile – often present as scavengers in substrate	Bacteria and small algae
<i>Polyhymenophora</i> . Feeding occurs via a band of membranelles (AZM)**			
(a) Hypotrichs: usually flattened Walk on substrate or swim using cirri [‡]	<i>Aspidisca</i> <i>Euploes</i>	Motile – on benthic substrates	Bacteria and other small particles
(b) Heterotrichs: some of the largest protozoa Move via somatic cilia, clearly arranged in kineties	<i>Stentor</i> <i>Climacostomum</i> *	Motile or non-motile (attached)	Bacteria and other small particles
(c) Oligotrichs: somatic cilia are absent or reduced. AZM** used for feeding and locomotion	<i>Halteria</i> <i>Strombidium</i>	Motile – typically planktonic in open water	Often larger particulate matter such as diatoms
<i>Prostomes</i> . Apical mouth, used for ingestion of detritus	<i>Urotricha</i> <i>Prorodon</i> *	Motile – often in sediments as scavengers	Large detritus – e.g., decomposing animal remains
<i>Suctorina</i> . The main (trophic) stage of life cycle lacks cilia Feeding via arms with extrusomes [†]	<i>Podophrya</i> <i>Tokophrya</i>	Sessile trophic stage, often with stalk	Motile protozoa such as ciliates

Cirus: Lokomotorna struktura formirana od gusto poredanih individualnih cilija koje se kreću kao jedna

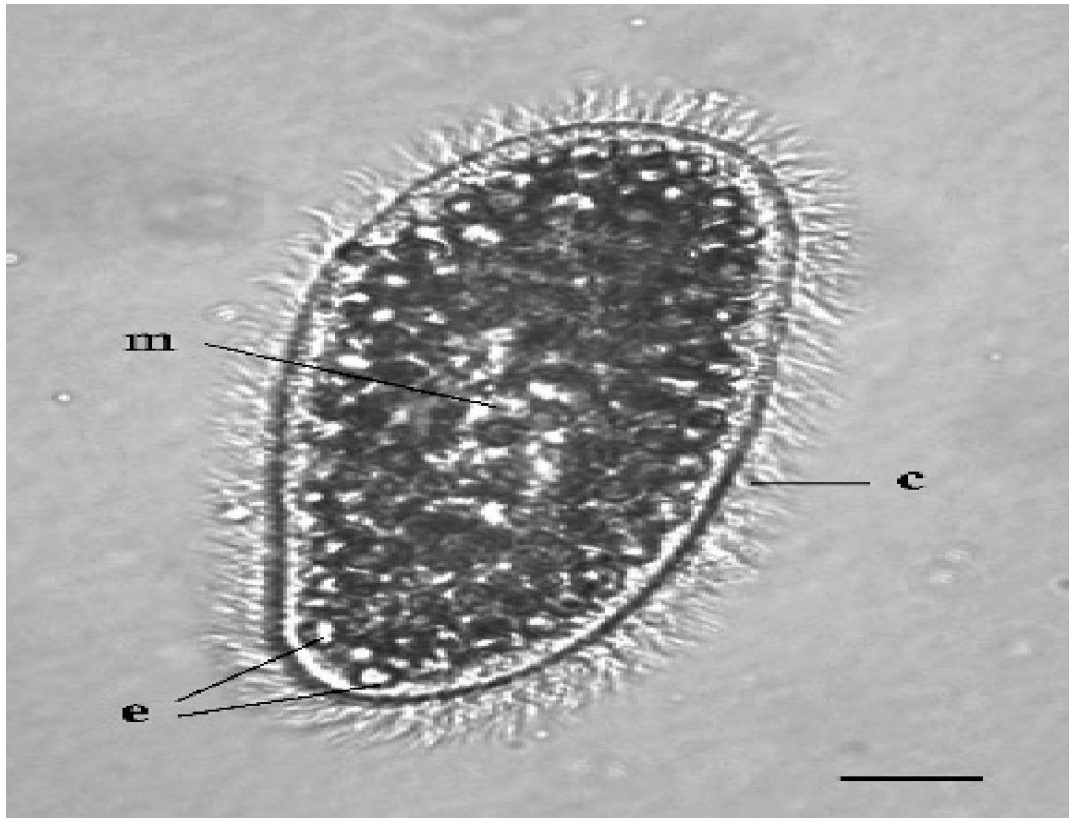
**AZM: adoralna zona membranela, izgrađenih od gusto grupisanih cilija

+Ekstrusome: organela sa sadržajem koji može da izlazi iz ćelije da uhvati plen

* Rodovi koji su u simbiozi sa zelenim algama

Ova tabela daje informacije o glavnim grupama cilijata. Ne predstavlja sve vrste. Data su po dva reprezentativna roda iz svake grupe i opisi pokretljivosti kao i načina ishrane karakterističnih za grupu

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama



Slika 1. *Paramecium bursaria*. Ova velika cilijata je veoma pokretna, krećući se preko supstrata pomoću cilija (c) koje pokrivaju celu ćeliju. Organizam poseduje dvojni metabolizam, ima mogućnost ingestije čestica (heterotrofno), ali može da vrši i fotosintezu pomoću zoochlorela (rod *Chlorella*). Ove endosimbiotske zelene alge (e) liče na granule, ispunjavajući celu citoplazmu i dajući ćeliji svetlo zelenu boju. Alge mogu biti izolovane i uzgajane u kulturi i koriste se za istraživanje virusnih infekcija. Bleda centralna zona ukazuje na prisustvo velikih makronukleusa (m)

Neke grupe cilija su grupisane u snopove, stvarajući na taj način veću silu u odnosu na pojedinačne cilije. Ove složene organele su evoluirale u dva pravca – formirajući „membranele“ (usmeravaju struju prema ustima raspoređene obično oko citostoma) i „ciri“ (izraštaji za kretanje kod hipotriha).

Kod nekih protozoa prisustvo i aktivnost cilija je prilično redukovana. Sésilne protozoe su u potpunosti izgubile cilije u adultnoj fazi životnog ciklusa, zbog prilagođenosti na sesilan način života. Identifikacija ovih protozoa kao cilijata se zasniva na tome što poseduju cilije samo u kratkom vremenskom periodu ranih razvojnih stadijuma.

8.3.1.2. Planktonske i bentosne cilijate

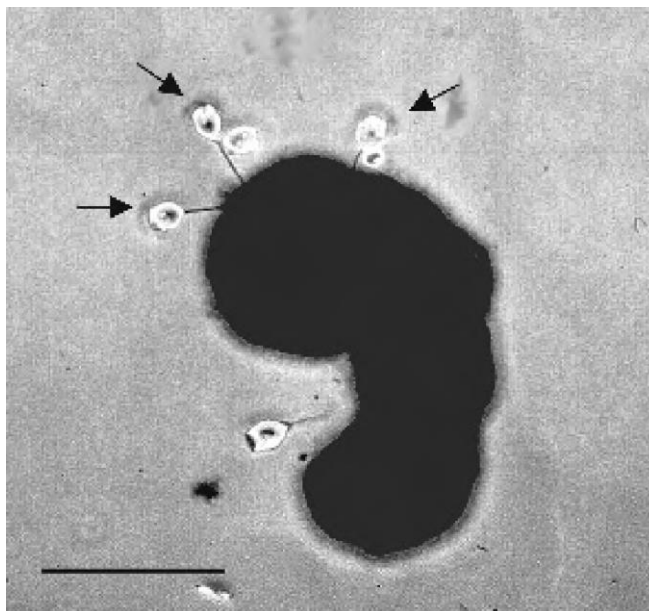
Neke grupe protozoa su primarno prilagođene na pelagijsko okruženje i kreću se u glavnom vodnom telu u potrazi za hranom. Ove grupe uključuju kolpopide, cirtofore i oligotrihe – od kojih su sve sposobne da se hrane fitoplanktonskim diatomejama,

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

dinoflagelatama i modrozelenim algama. Neke od ovih planktonskih cilijata imaju jako dobre mehanizme kretanja, uključujući oligotrihe – koje su izgubile somatske cilije i razvile adoralnu zonu membranela (AZM). U pitanju je oblast blizu ćelijskih usta sa puno membranela koje hranu usmeravaju ka citostomu. Bentosne cilijate su česte u sedimentima i detritusu, gde se često mogu naći kako plivaju preko površine podloge dok traže čestice, bakterije i druge protozoe za hranu. Hipotrihe kao *Euplotes* su naročito aktivne sa razvojem cira koje im služe za kretanje preko čvrstih površina.

8.3.1.3. Pokretne i sesilne cilijate

Pokretne cilijate mogu biti planktonske ili bentosne, i mogu uključivati predatore i one koje se hrane filtracijom. Neke pokretne cilijate su čvrsto vezane za različite površine koje sadrže epifitne bakterije i organski materijal.



Slika 2. Kolonija modro zelene alge *Gomphosphaeria* sa epifitnim cilijatnim protozoama (*Vorticella* sp.): pričvršćivanje za površinu alge pomoću drške koja se izdužuje se može jasno videti kod tri protozoe (označeno strelicama)

Mnoge sesilne cilijate su pričvršćene za organski materijal koji se razgrađuje i hrane se gustim populacijama bakterija koje često naseljavaju ovakva staništa. Takvi organizmi su bitan deo bentosne zajednice i njima se hrane razni bentosni beskičmenjaci zajedno sa raznim organskim materijalom za koji su oni pričvršćeni. Iako se sesilne protozoe najčešće smatraju bentosnim organizmima nalazimo ih i u glavnoj vodenoj masi pričvršćene za fitoplanktonske kolonije (na primer peritrihalna *Vorticella*) ili za slatkovodnu faunu kao što su na primer škrge slatkovodnih račića *Gammarus*. Ovi organizmi mogu da koriste prednosti pelagijskog okruženja, izbegavajući na taj način bentosne predatore i dobijajući pristup lokalnim populacijama bakterija, bez utroška energije na kretanje koja je inače neophodna za [pokretne protozoe](#).

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Sesilne planktonske protozoe kao što je *Vorticella* često su združene sa kolonijama modrozelenih algi, gde su deo mikrobne zajednice koja uključuju raznovrsne populacije epifitnih bakterija, gljiva, protozoa, i drugih ćelija algi (Slika 2). Ove protozoe imaju kompleksan životni ciklus koji uključuje smenu sesilnih i pokretnih oblika. Aktivno pokretni oblici su važni u naseljavanju novih algalnih kolonija i rasprostiranju kroz planktonske zajednice.

8.3.1.4. *Predatori i filtratori*

Filtracioni tip ishrane se razvijao kroz evoluciju kao naročito efikasan način ishrane kod cilijata. Nekoliko grupa poseduje bukalne cilije koje generišu strujanje vode iz koje se izdvajaju hranljive materije. Kod kolpopida, ovo uključuje korišćenje gusto zbijenih cilija oko citostoma koje uklanjaju velike planktonske ćelije. Druge dve velike grupe, oligohimenofora i polihimenofora su razvile specijalizovani bukalni aparat i uspešne su u filtraciji bakterijskih populacija koje se razvijaju u vodama bogatim organskom materijom i detritusom. Oligohimenofora su razvile tri membranele blizu citostoma, dok kod polihimenofora bukalna cilija formira AZM koja se širi od anteriornog dela ćelije do mesta usvajanja hrane ([citostoma](#)). Neke vrste kolpopida vrše filtraciju tokom aktivnog kretanja, dok druge, koje su sesilne, koriste strujanje vode kako bi hranljive materije dospele do ćelije.

[Predacija](#) je aktivno traženje i ingestija pokretnog plena i ona se razvila kod nekih cilijatnih grupa. Haptoridi su jedna od grupa predatorskih cilijata koja hvata i ubija plen uz pomoć organela koje se nazivaju ekstruzomi. Ove organele izbacuju svoj sadržaj pri kontaktu sa plenom kojeg na taj način imobilizuju. Predatorski način ishrane postoji i kod suctoria, grupe cilijata koja je skoro u potpunosti prestala da koristi cilije za ishranu i kretanje. U životnom ciklusu ove grupe dominira sesilna forma koja ne koristi cilije za ishranu, već hvata plen uz pomoć izduženih pipaka na kojima se nalaze [ekstruzomi](#).

8.3.1.5. *Simbiotske asocijacije cilijatnih protozoa*

Cilijatne protozoe kao što su *Nassula* su bitni konzumenti modro-zelenih algi i često su zelene zbog prisustva delimično svarenih algalnih ostataka. Po završetku varenja, ove protozoe se vraćaju u bezbojno stanje do iduće ingestije. Za razliku od ovih predstavnika koji su samo privremeno zeleni zbog prisustva algi tokom ishrane, druge protozoe su trajno zelene zbog kontinuiranog prisustva algi u njihovim ćelijama što predstavlja simbiotski odnos ovih organizama. Jedan od najboljih primera jeste [Paramecium bursaria](#), koja sadrži fotosintetski aktivnu zoohlorelu (Slika 1). Ove simbiotske alge doprinose taloženju organske materije u protozoi, a sebi obezbeđuju metabolite i zaštitu od strane domaćina. Zelene alge (Chlorophyta) su vrlo često u simbiotskoj asocijacija sa cilijatama. Neki od rodova koji formiraju simbiotske asocijacije uključuju sesilne bentosne protozoe (*Ophyridium*), one koje se aktivno kreću živeći u sedimentima

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

(*Paramecium*, *Cimacostomum*) i planktonske organizme koji su prisutni u vodenom stubu (*Strombidium*, *Frontonia*). Uprkos trajnom prisustvu fotosintetskih algi u njihovoj citoplazmi, ove protozoe se sve i aktivno hrane.

Populacija simbiotskih protozoa može biti ekološki važna, čineći veliki udeo u stvaranju biomase. Hecky i King (1981) su zabeležili da je u jezeru Tanganjika biomasa *Strombidium viride* bila jednaka masi fitoplanktona, što govori da je ova oligotrihna cilijata (koja sadrži simbiotske alge) igrala značajnu ulogu u primarnoj produkciji. Simbiotske cilijate mogu biti ekološki važne i u bentosnim zajednicama.

8.3.2. Flagelatne protozoe

Flagelatne protozoe su karakteristične po sledećim osobinama:

- poseduju jednu ili više flagela. Ove organele za kretanje imaju unutrašnju strukturu sličnu cilijama, ali su najčešće manje brojne, zakačene samo za anteriorni deo ćelije i dugačke su gotovo kao i ćelija. Najčešće su dve, od kojih jedna može biti jako kratka. Pored motorne funkcije, flagela može služiti i u ishrani (strujanje vode za filtraciju čestica) i za pričvršćivanje za podlogu.
- Većina je malih dimenzija. Mnoge flagelatne protozoe imaju prečnike ćelije manje od 20 μm . Ovo ima važne implikacije u ishrani ovih organizama, ograničavajući ćelije na ishranu sitnijim česticama (npr. bakterije) ili usvajanje rastvorenog organskog materijala preko površine ćelije.
- Kompleksni taksonomski odnosi flagelatnih protozoa su se pokazali problematičnim iz više razloga. Evolutivna kompleksnost ove grupe, takođe njihovo posmatranje pod mikroskopom zbog njihove veličine stvara poteškoće u rasvetljavanju ovih odnosa. U nekim situacijama je neophodna elektronska mikroskopija ili molekularna analiza.

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama



Slika 3. *Peranema trichophorum* – euglenoidna flagelata. Visoko aktivna fagotrofna flagelata, koja ne pliva nego klizi koristeći istaknutu anteriornu flagelu (f). *Peranema* takođe ima drugu i kraću flagelu koja je rekurentna i ekstremno teška za uočiti. Ova vrsta je bezbojna i hrani se bakterijama i manjim protistima (razmer = 50 μ m)

U pogledu taksonomije veoma je problematičan status flagelatnih grupa kao što su euglene koje u svojoj grupi sadrže bezbojne i fotosintetske oblike. Iako su one najčešće opisane kao alge, nefotosintetski članovi mogu činiti veliki deo heterotrofne aktivnosti u vodenim ekosistemima (Tabela 2). Jedan takav organizam je *Peranema*, bezbojni član grupe flagelatnih euglena i bitan je član bentosne zajednice (Slika 3). Ovaj veliki i aktivni fagotrof ima mogućnost unošenja hranljivih čestica (bakterija, drugih protozoa i detritusa) u svoju ćeliju preko para štapića za ingestiju. Gotovo sve bentosne protozoe se hrane bakterijskim populacijama u sedimentima i bakterijskim biofilmovima pričvršćenim za čvrste površine (Patterson i Larsen, 1991). Neke grupe (bikosecidi, ogrlične flagelate) su tipično sesilne, sa individuama zakačenim na supstrat i zatvorenim u zaštitne omotače ili lorike. Druge grupe (bodonidi, cercomonade, diplomonade) koriste svoje flagele da bi migrirale preko supstrata konzumirajući organski otpad ili bakterije. Pelobionti su neobična grupa koja može da usvoji ameboidni način kretanja, preusmeravajući svoje flagele na funkciju bez kretanja. Kao i kod cilijata, hrana se uzima predatorski ili filtraciono. Predacija uključuje aktivno traženje hrane i uzimanje hrane u česticama (fagocitoza) preko ekstenzija citoplazme (pseudopodije). Filtraciona ishrana se najčešće sreće kod sesilnih flagelata i podrazumeva kreiranje strujanja vode kako bi se obezbedila veća količina materijala. Flagelate sa ogrlicom su naročito česta grupa koja se hrani filtracijom

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Tabela 30 Glavne grupe slobodnoživećih bezbojnih flagelata.

Group	Examples	Motility and microhabitat*	Food
<i>Bicosoecids</i> . Two anterior flagella, one directed backwards for attachment to base of lorica**	<i>Bicosoca</i>	Sessile, attached by lorica	Suspended bacteria
<i>Bodonids</i> . Small, biflagellated Have kinetoplast†	<i>Bodo</i> <i>Rhynchomonas</i>	Motile (gliding) or sessile	Typically ingest individual attached bacteria via a discrete mouth
<i>Cercomonads</i> . Two flagella, one anterior (for motility) the other trails behind	<i>Cercomonas</i> <i>Heteromita</i>	Motile (gliding)	Feed on bacteria by pseudopodial engulfment
<i>Collar flagellates</i> . Single flagellum, surrounded by a basal collar of cytoplasmic fingers Single or colonial Some have a lorica**	<i>Codonosiga</i> <i>Monosiga</i>	Mostly sessile	Filter suspended bacteria or other small particles
<i>Diplomonads</i> . Cells with two nuclei and two clusters of four flagella	<i>Trepomonas</i> <i>Hexamita</i>	Motile	Consume bacteria by phagocytosis or organic matter by absorption over surface (osmotrophic)
<i>Pedinellids</i> . Single apical flagellum Usually with a stalk	<i>Actinomonas</i> <i>Pteridomonas</i>	Individual cells alternately motile or sessile	Filter feeding of bacteria when sessile
<i>Pelobionts</i> . Amoeboid cells with a long stiff flagellum (not for motility) <i>Unassigned genera</i> †	<i>Mastigamoeba</i> <i>Pelomyxa</i>	Motile, by amoeboid movement	Ingest bacteria and algae by phagocytosis

Ova tabela daje informacije o nekim glavnim grupama bezbojnih flagelata, ali nije namjenjena da bude sveobuhvatna. Grupe koje sadrže fotosintetske flagelate nisu uključene. Dva reprezentativna slatkovodna roda su data za svaku grupu i opisi pokretljivosti i ishrane koji su uobičajeni za grupu. *Gotovo sve flagelatne grupe u ovoj tabeli su tipične za bentosno mikrostanište, bogato detritusom i bakterijskim populacijama. *Ima oko 70 rodova heterotrofnih flagelata koje ne mogu da se svrstaju ni u jednu poznatu grupu. **Lorica: organska ili neorganska ljuštura, koja nepotpuno okružuje organizam i često je labavo vezana. +Kinetoplast: veliko telo mitohondrijalne DNK

Ogrlica je citoplazmatska ekstenzija pri bazi anteriorne flagele i načinjena je od finih pseudopodija koje funkcionišu kao sistem za filtraciju. Zarobljene bakterije su aktivnošću pseudopodija uvlače u ćeliju. Druga interesantna grupa su pedinelidi, kod kojih se javljaju i pokretnih i sesilni oblici. Ovi organizmi obično imaju trajnu stabljiku, koja ih kao u slučaju roda *Actinomonas* (čest slatkovodni rod) jednostavno prati dok plivaju. Ovaj organizam ulazi u seslinu fazu pričvršćujući se za supstrat uz pomoć stabljike i naknadno obrazujući „ručice“ ili pipke oko flagele. Suspendovane čestice se flagelom navode na pipke gde bivaju uhvaćene ekstruzomalnim sekrecijama i nakon toga se razgrađuju. Ove „ručice“ se uvlače kada ćelija ponovo pređe u pokretnu ili plivajuću fazu.

8.3.3. Ameboidne protozoe

Ameboidne protozoe su česti organizmi u slatkovodnim sistemima gde se pojavljuju se kao planktonske i kao bentosne forme. Iako su amebe raznolika grupa organizama imaju veliki broj zajedničkih osobina:

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

- Nemaju cilije ni flagele
- Fagocitna ishrana i pokretljivost se ostvaruju citoplazmičnim ekstenzijama sa ćelijske površine (pseudopodije)
- Mnoge amebe proizvode debeli spoljašnji omotač koja se naziva lorika; ona može biti organska (sa ili bez spoljašnjeg usvojenog materijala) ili može biti sačinjena od neorganskog materijala.

Tabela 31 Velike grupe slobodnoživećih slatkovodnih ameboidnih protozoa.

Group	Examples	Motility and microhabitat*	Food
HELIOZOAN AMOEBAE			
star-like protozoa with radiating arms (stiffened pseudopodia)			
<i>Actinophryids</i> : arms taper from base to tip	<i>Actinophrys</i> <i>Actinosphaerium</i>	Free-floating, planktonic	Consume motile protozoa, unicellular algae and some metazoa (e.g., rotifers)
<i>Centrohelids</i> : arms thin, do not taper and have extrusomes Microtubular rod supporting the arm terminates on a central granule	<i>Acanthocystis</i> <i>Heterophrys</i>	Free-floating, planktonic	Algae
<i>Desmothoracids</i> : cells live within a perforated lorica from which arms project	<i>Clathrudina</i> <i>Hedriocystis</i>	Sessile, benthic	Consume fine particulate material including bacteria
RHIZOPOD AMOEBAE			
produce temporary pseudopodia			
<i>Euamoebae</i> : have one or more broad pseudopodia, but lack a shell or lorica	<i>Amoeba</i> <i>Mayorella</i>	Motile, often on sediments and organic matter	Voracious scavengers and predators, consuming detritus and microbes (e.g., bacteria, diatoms)
<i>Heterolobosea</i> : have an amoeboid and flagellated stage in the life cycle A mixed assemblage of organisms	<i>Naegleria</i> <i>Tetramitus</i>	Motile, planktonic	
<i>Nucleariid filose amoebae</i> : have thin filose pseudopodia arising at any part of the body Pseudopodia not stiffened and without extrusomes	<i>Nuclearia</i> <i>Pompholyxophrys</i>	Motile, planktonic	Feed on algae, including blue-greens
<i>Vampyrellids</i> : flattened amoebae with delicate filose pseudopodia arising from margins	<i>Arachnula</i> <i>Vampyrella</i>	Motile, planktonic or on sediments	Attack fungi and algae
<i>Testate amoebae</i> : amoeboid organisms within a shell of organic matter Pseudopodia arise from one or two apertures	<i>Amphitrema</i> <i>Arcella</i>	Sessile, present in sediments	Range of particulate material

Ova tabela daje informacije o nekoliko glavnih grupa ameboidnih protozoa, ali nije namjenjena da bude sveobuhvatna. Dva reprezentativna slatkovodna roda su data za svaku grupu i opisi o pokretljivosti i ishrani su uobičajni za grupe.

Kao i kod flagelata, razlikovanje ameboidnih protozoa može biti problematično i klasifikacija unutar grupe je kompleksna (Tabela 3). Odsustvo cilija i flagela, na primer, nije karakteristično za jednu grupu svrstanu među amebe – heterolobosea. Članovi ove

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

heterogene grupe, koja uključuje fakultativne humane parazite *Naegleria* imaju ameboidnu i flagelatnu fazu u životnom ciklusu. Neke činjenice koje zbunjuju u identifikaciji aktivno pokretnih ameboidnih ćelija se javljaju u vezi sa celularnim sluzavim gljivama koje imaju amebodine „rojeve“ kao deo životnog ciklusa (Olive, 1975). Slična problematika (u relaciji sa flagelatnim protozoama) može se takođe pojaviti kada ih poredimo sa pravim sluzavim gljivama koje u životnom ciklusu imaju takozvane miksoflagelate. Kod obe grupe sluzavih gljiva ameboidni oblici se retko sreću u slatkovodnim sistemima i u stvari su najčešće deo kratkotrajnih kolonijalnih zajednica u odnosu na dugotrajne populacije individualnih nezavisnih ćelija.

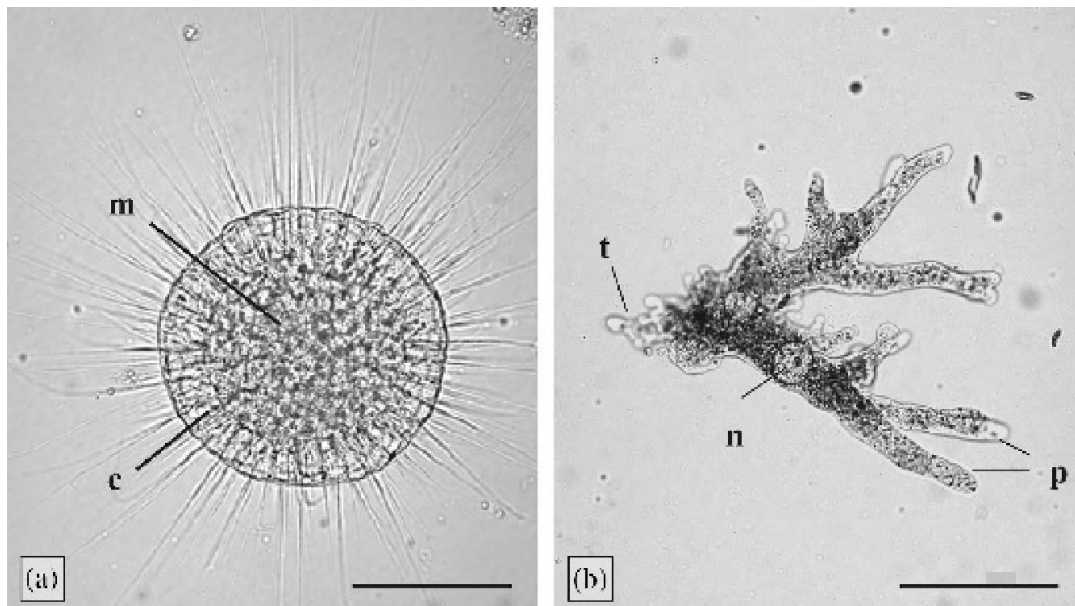
8.3.3.1. Evolucione strategije ameboidnih protozoa: heliozoe i rizopodne amebe

Kompleksnost koja se sreće u grupi ameboidnih protozoa je rezultat različitih adaptacija kojima ovi organizmi nalaze svoje mesto u akvatičnim ekosistemima. Filogenetski razvoj pseudopodija, glavnog taksonomskog obeležja ove grupe protozoa, je išao po dve glavne linije. Ovo je dovelo do evolucije dve glavne grupe organizama: heliozoe i rizopodne amebe, svaka sa svojom strategijom u ishrani (Slika 4).

8.3.3.2. Heliozoa: pasivna ishrana difuzijom

Ove zvezdolike protozoe imaju krute pseudopodije (aksopodija) koje izlaze iz sferičnih ćelija poput zraka u svim smerovima. Svetlosna mikroskopija velikih heliozoanskih protozoa, kao što je *Actinosphaerium*, pokazuje aksopodije koje su stacionarne i polaze iz centralnog multinuklearnog regiona ćelije koji je okružen zonom citoplazme (Slika 4). Pseudopodije ovih organizama nisu uključene u aktivno kretanje i evoluirale su samo u svrhu ishrane. Ove protozoe se hrane pasivnom difuzijom koja se oslanja na kretanje (plutanje ili plivanje) plena da bi on došao u kontakt sa pseudopodijama. Pseudopodije su trajne štapičaste strukture sa unutrašnjim mikrotubularnim skeletom koje povećavaju šansu da dođu u kontakt sa plenom pružajući se u okolnu sredinu. Mali adhezivi (ekstruzomi) se kreću preko pseudopodijalnih ručica i služe za pridržavanje potencijalnog plena.

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama



Slika 4. Heliozoe i rizopodne amoebe: (a) *Actinosphaerium eichornii*. Velika heliozoa. Ovaj organizam ima mnogo ruku (aksopodija) koje su usidrene u centralnom multinuklearnom prostoru (m) ćelije. Ruke prolaze kroz perifernu vakuoliziranu citoplazmu (c), izlazeći kao produžene strukture, sužavajući se od baze prema vrhu. *Actinosphaerium* se hrani pokretnim protozoama, jednoćelijskim algama, i malim metazoama (rotiferama) koje dolaze u kontakt i bivaju imobilizovane aksopodijama (razmer = 100 μm). (b) *Amoeba proteus*. Jako velika rizopodna amoeba, koja je tipično aktivna dok vrši inkapsulaciju plena i fagocitozu. Ovaj primerak se aktivno kreće i izdužuje svoje pseudopodije (p) na desno ostavljajući trag u posteriornom regionu (t). Protoplazma je granularna i sadrži istaknuti nukelus (n) (razmer = 200 μm)

8.3.3.3. Amebe sa rizopodijama: aktivni predatori

Kod rizopodnih ameba pseudopodije se pojavljuju kao privremene ekstenzije iz ćelije i uključene su u kretanje i ingestiju hranljivih čestica. Ove protozoe su usvojile strategiju aktivne predacije krećući se u vodenom stubu ili po sedimentima u potrazi za hranljivim česticama. Vrsta roda *Amoeba* su visoko aktivne u bentosnim sredinama gde fagocitiraju bakterije i druge hranjive čestice. Iako se većina ameba hrani sitnijim hranljivim česticama, neke mogu da usvoje mnogo krupnije hranjive materijale. Nuklearidne i vampirelidne amoebe se hrane velikim planktonskim algama, uključujući filamentozne modrozelenelne alge i imaju potencijal da budu korišćene kao agensi za biokontrolu. Jedna naročita vrsta *Nuclearia delicatula* se pričvršćuje za jedan kraj filameta modro-zelene alge i aktivno ih proždire redukujući im populaciju u laboratorijskim kulturama ili u vodenom stubu u prirodi. Sposobnost formiranja pseudopodija je raširena među eukariotima i protozoe koje imaju ove strukture nisu uvek srodne. Velika kategorija rizopodnih ameba se razlikuje oblikom i brojem pseudopodija i uključuje neke amoebe sa jednom ili više širokih pseudopodija (euamebe), dok druge imaju veći broj tanjih

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

(filamentoznih) pseudopodija (nuklearidi i vampirelidi). Jedna grupa ameba, testatne amebe, su usvojile plutajući način života i žive u ljušturama od organske materije na sedimentima.

8.4. Ekološka uloga protozoa u pelagijskom okruženju

Sve tri velike grupe protozoa svojim predstavnicima daju doprinos slatkovodnim planktonskim zajednicama jezera, rezervoara i ostalih stajaćih voda. Planktonske protozoe imaju dve bitne karakteristike koje su važne za njihovu egzistenciju u glavnom vodenom telu.

Imaju mehanizme za izbegavanje sedimentacije u vodenom stubu. Oni uključuju aktivno kretanje, plovnost ili pričvršćivanje za druge planktonske organizme kao što su alge i zooplankton. Mnoge slobodno pokretne protozoe su sposobne da se pozicionišu na određenim dubinama u vodenom stubu.

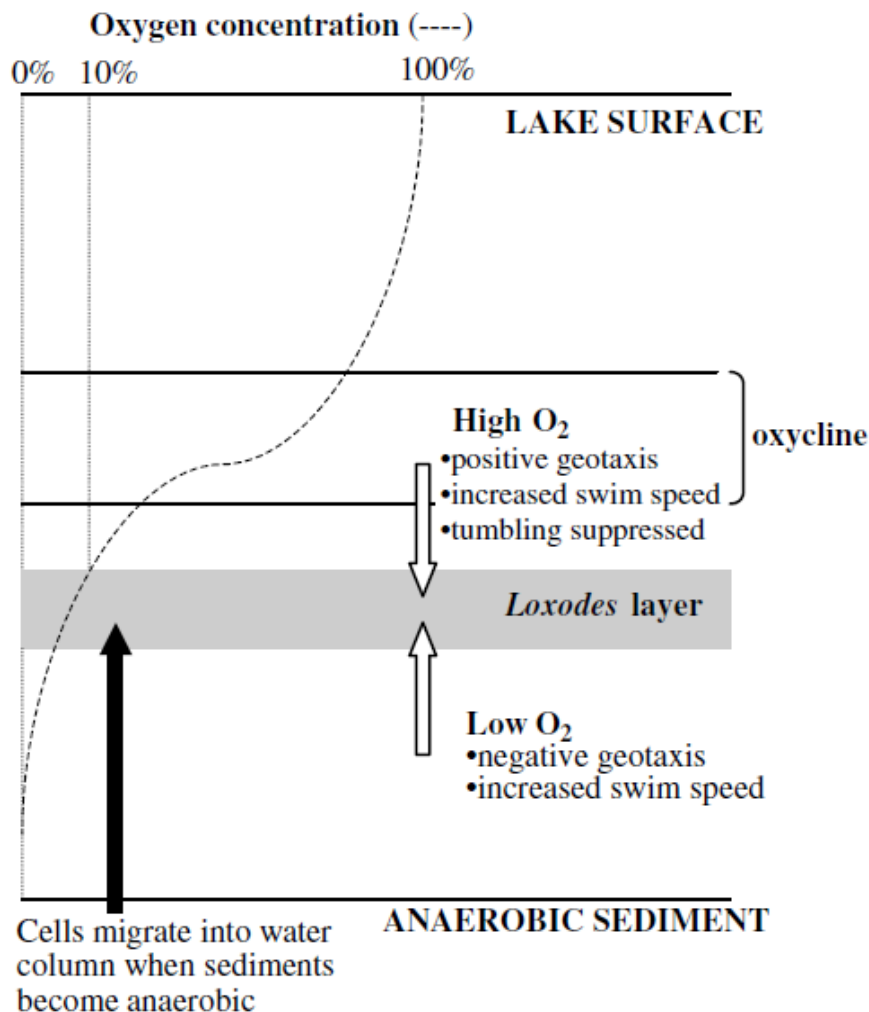
Imaju sposobnost da hvataju i usvajaju čestičnu organsku materiju, pikoplankton i velike algalne kolonije. Izuzetak su saprotrofne protozoe, koje rastvorenu organsku materiju iz vode apsorbuju preko svoje ćelijske membrane.

8.4.1. Pozicioniranje protozoa u vodenom stubu

Kao i pokretne alge, protozoe se mogu pozicionirati vertikalno u vodenom stubu i to u odnosu na optimalne uslove sredine. U slučaju heterotrofnih protozoa, međutim, pozicioniranje nije primarno povezano sa intenzitetom svetlosti nego je odgovor na druge eksterne parametre kao što su izvor hrane i koncentracija kiseonika. Mnoge protozoe reaguju na gradijent koncentracije kiseonika koji ih može privlačiti ili odbijati. Cilijata *Loxodes* je mikroaerofilni organizam, koji preferira koncentracije od 5% kiseonika. Ova protozoa migrira iz sedimenata koji postanu anaerobni za vreme stratifikacije jezera, i pozicionira se na odgovarajuće mesto u vodenom stubu koje odgovara njihovim potrebama. Ovi organizmi migriraju naviše ili naniže u vodenom stubu pozitivnim ili negativnim geotaksijama i imaju dobro razvijene georeceptore (statoliti) koji sadrže čestice barijuma. Geotaktični odgovor varira sa koncentracijom kiseonika (Slika 5), dovodeći do koncentrisanja *Loxodes* populacije na određenoj dubini. Kretanje iz ovakvih regija dovodi do specifičnog geotaktičnog odgovora, uz povećanje pokretljivosti i smanjenje nasumičnih pokreta. Poslednje se odnosi na periodične aktivnosti, kada dođe do depolarizacije površine membrane, što rezultuje naglom i nasumičnom promenom pravca – što je pojava karakteristična za mnoge protozoe. Izbegavanje čak i nižih koncentracija kiseonika od strane mikroaerofilnih organizama poput *Loxodes*, može se objasniti intracelularnom produkcijom štetnih kiseoničnih radikala, koji nastaju

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

fotohemijski od molekuskog kiseonika kod pigmentisanih vrsta (Finlay, 1981). Iako protozoe ne privlači svetlost, prisustvo endosimbiontskih algi može promeniti tu osobinu. *Paramecium bursaria* koji sadrži simbiotske zoochlorelle ispoljava izraženu fototaksiju. Ovakvo ponašanje se gubi, ukoliko organizam izgubi endosimbiontske alge, i može delimično biti uzrokovano kiseonikom produkovanim od strane algalnih simbiota. Neke nesimbiontske protozoe, naročito heterotrihne cilijate, takođe mogu reagovati na svetlo (Fenchel, 1987). Prisustvo dobro obojenih flavinskih i hipericinskih pigmenata u ovim organizmima je najčešće u korelaciji sa negativnim reakcijama na svetlo.



Slika 5. Pozicioniranje mikroaerofilnih cilijatnih protozoa *Loxodes* u vodenom stubu: organizmi se vraćaju *Loxodes* sloju pozitivnom ili negativnom geotaksijom kad se kreću u regione sa većom ili manjom koncentracijom kiseonika

8.4.2. Trofičke interakcije u vodenom stubu

U planktonskoj zajednici protozoe su često važna karika u lancu ishrane:

- U mikrobiološkoj petlji, hrane se bakterijama koje su usvojile rastvoreni organski ugljenik (DOC) koji potiče od fito- i zooplanktona;

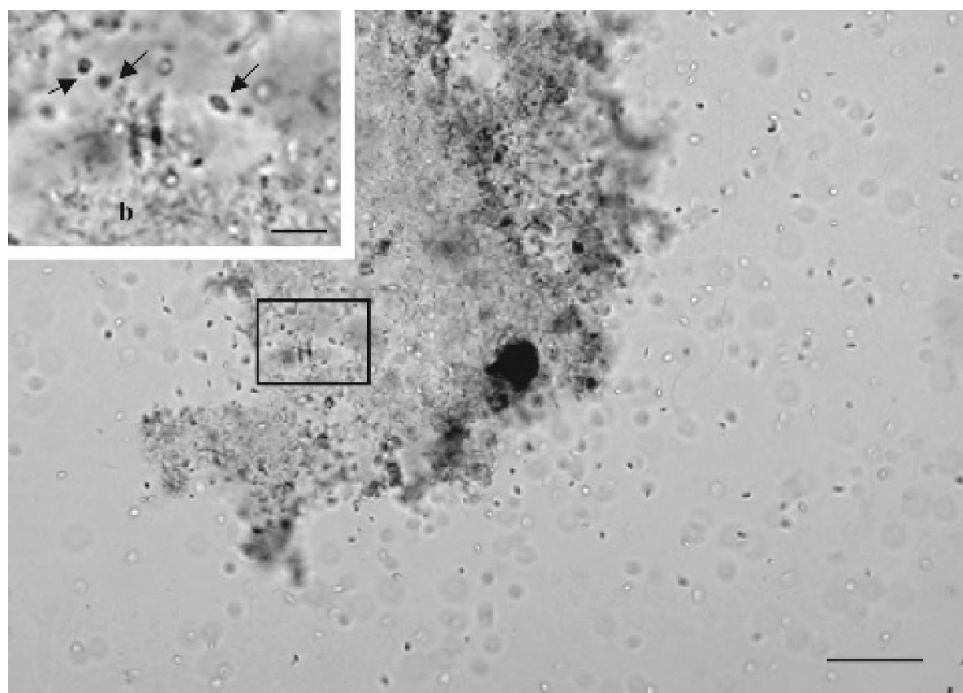
8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

- Analogno herbivorima u klasičnim lancima ishrane, mogu da se hrane algama, od jednoćelijskih do kolonijalnih. Transfer biomase se onda odvija tako što se zooplankton i beskičmenjaci hrane protozoama.

Adaptacije i ekološke uloge planktonskih protozoa u stajaćim vodama se mogu ilustrovati specifičnom grupom organizama – heterotrofnim nanoflagelatama (HNF).

8.5. Heterotrofne nanoflagelate: Integralna komponenta planktonskih zajednica

Heterotrofne flagelate su važan deo ekoloških zajednica protozoa koje uključuju bakteriovore, herbivore (hrane se algama), detritivore (hrane se ne odumrlim organskim otpadom), i saprotrofe (usvajaju rastvorene organske materije).



Slika 6. Populacija *Bodo saltans* – heterotrofne nanoflagelate: Neke od flagelata su probile raspadajući organski materijal, usvajaju bakterije koje se nalaze u njemu, dok druge usvajaju bakterijske ćelije koje su izašle u generalni medijum. Individualne *Bodo* ćelije imaju veliku posteriornu flagelu veličine $5\mu\text{m}$ u dijametru (razmer = $50\mu\text{m}$). Isečak: detalji iz unutrašnjosti otpada, strelice pokazuju flagelatne ćelije susjedne regionu sa bakterijskim ćelijama (b) (razmer = $10\mu\text{m}$) (preuzeto iz Sigee, 2004)

Ističu se dve glavne grupe heterotrofnih flagelata:

- Mikroflagelate, veličine $20 - 200\mu\text{m}$, uključujući alge kao što su euglene i dinoflagelate

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

- Nanoflagelate 2 – 20µm koje uključuju hoanoflagelate i hrizomonade (Chrysophyta)

Heterotrofne nanoflagelate (HNF) su privukle posebnu pažnju u poslednjih nekoliko godina zbog bakteriovrne ishrane (Beminger i sar., 1991a, b). Protozoa *Bodo saltans* je dobar primer ove grupe koja se često javlja kao deo zajednice aktivnog mulja u uređajima za prečišćavanje otpadnih voda gde se hrani bogatim bakterijskim obraštajem. HNF su sposobne da se hrane efikasnije od drugih bakteriovora na relativno rastersitim suspenzijama bakterija (10^5 - 10^6 ml⁻¹) i veliki su konzumenti pikoplanktonskih mikroorganizama u raznim slatkovodnim sredinama (Slika 6). Ekološki uticaj planktonskih nanoflagelata će biti razmotren u vezi sa veličinom njihovih populacija, taksonomskim diverzitetom, intenzitetom ishrane bakterijama i distribucijom u vodenom stubu.

8.5.1. Brojnost populacija nanoflagelata u vodenim uzorcima

Novе metode za uočavanje i brojanje nanoflagelata u vodenim uzorcima su pokazale mnogo veću brojnost nanoflagelata nego što se ranije pretpostavljalo. Da bi se utvrdila njihova zastupljenost korišćena su dva osnovna pristupa– broj živih ćelija i ukupan broj ćelija.

8.5.1.1. Broj živih ćelija

Ova tehnika, koja se još zove „metoda najverovatnijeg broja“ ([most probable number - MPN](#)), dobro je poznata u mikrobiologiji i uključuje serijska razređenja vode od kojih se svako inkubira sa suspenzijom organizama koji služe kao hrana. Za heterotrofne nanoflagelate kao hrana se uglavnom koriste bakterije tako što se dodaju direktno u različita razređenja kao dodatak prirodnoj bakterijskoj zajednici. Sa teorijske tačke gledišta, bilo koje razređenje koje sadrži jednu flagelatnu ćeliju će rezultirati njenim rastom i stvaranjem čitave populacije flagelata. Broj flagelata u originalnom vodenom uzorku može biti izračunat iz odnosa broja pozitivnih proba, razređenja i broja ponavljanja određenih razređenja, koristeći se odgovarajućim tablicama verovatnoća. Kao i prilikom procene brojnosti bakterijskih populacija, određivanje broja živih flagelata može da ima negativnu stranu jer treba uzeti u obzir da neće svi organizmi rasti i razmnožavati se u laboratorijskim uslovima. Iz tog razloga, ova tehnika ne daje precizan broj jedinki protozoa u uzorku. Tehnika je takođe nepogodna jer zahteva dosta laboratorijskog rada. Uprkos ovim nedostacima, ova tehnika pruža jedini način da se odredi broj flagelata određenih trofičkih tipova (bakteriovore, herbivore). Takođe, mogu se obezbediti flagelatne monokulture za dodatnu taksonomsku i biohemijsku karakterizaciju.

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

8.5.1.2. Ukupan broj ćelija

Direktno mikroskopsko brojanje uz upotrebu epifluorescencije se naširoko koristi da bi se odredio ukupan broj nanoflagelatnih populacija. U praksi, formaldehid i glutaraldehid fiksativi se dodaju u vodene uzorke odmah nakon sakupljanja u cilju zaštite flagelata, a uzorci se čuvaju u frižideru (0-4°C) u mraku kako bi zadržali hlorofilsku fluorescenciju (autofluorescencija). Pod fluorescentnim mikroskopom, heterotrofne flagelate se mogu videti (zajedno sa drugim organizmima) koristeći razne fluorescentne boje koje se vezuju za jedro (arkidin oranž, DAPI) i onda se mogu razlikovati od drugih autotrofnih organizama po odsustvu hlorofilne autofluorescencije. Nanoflagelate se mogu razlikovati od mikroflagelata i drugih organizama koji ne sadrže hlorofil po veličini i obliku, i mogu se izbrojati ručno ili uz pomoć automatizovanih tehnika poput analize kompjuterskih slika, tačne citometrije ili mikrofotometrije. Puna taksonomska analiza HNF zajednica zahteva pregled ovih organizama u nefiksiranim i neobojenim uslovima i najbolje se izvodi na živim uzorcima.

8.5.2. Taksonomski sastav HNF zajednica

Heterotrofni nanoflagelati su raznovrsna taksonomska grupa. Pregled 55 jezera u Severnoj Nemačkoj (Auer i Arndt, 2001), je pokazalo, na primer, da većina nanoflagelata u ovom geografskom regionu spada u pet velikih taksonomskih kategorija od kojih hrizofite i grupa neidentifikovanih vrsta čine većinu. Druge važne taksonomske grupe koje se često pojavljuju su hoanoflagelate, bikosoecide i bodonide (Tabela 4).

Tabela 32 Glavne heterotrofne nanoflagelatne grupe u jezerima umerenog klimatskog pojasa. Auer& Arndt, 2001 preuzeto iz Sigeo, 2004)

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Taxon	Percentage occurrence in samples	Typical genera	Mean size (μm)
Chrysophytes	93%	<i>Spumella</i> <i>Paraphysomonas</i> *	5.2 14.2
Choanoflagellates	57%	<i>Monosiga</i> <i>Codonosiga</i>	4.9 6.1
Bicosoecids	54%	<i>Bicosoeca</i>	5.5
Bodonids	41%	<i>Bodo</i>	3.3
Unidentified assemblage	87%	<i>Kathablepharis</i> <i>Quadricilia</i> * <i>Aulacomonas</i> *	4.7 9.8 16.9

*HNF-ovi velikih dimenzija, pokazuje najveću brojnost u hipertrofnim jezerima i u proleće

8.5.3. Zastupljenost i kontrola flagelatnih populacija

Brojnost flagelata u slatkovodnim staništima se razlikuje između mikro i nanoflagelata. Heterotrofne mikroflagelate variraju u brojnosti do 10^2 ćelija·ml⁻¹, dok nanoflagelata ima više i one dostižu brojnost do 10^5 ćelija·ml⁻¹.

Populacije nanoflagelata u određenom akvatičnom sistemu zavise od balansa između:

- kontrola odozgo-nadole (top-down control), pritisak od strane viših trofičkih nivoa posebno izražen od strane cilijatnih protozoa i zooplanktona i
- kontrole odozdo-nagore (bottom-up control), koji se ogleda u dostupnosti hrane, naročito dostupnosti bakterija

U kratkim vremenskim periodima i u malim sredinama, balans između ova dva aspekta može vidno varirati, rezultirajući u uočljivim oscilacijama u brojnosti nanoflagelatnih populacija. Značaj aktivnosti ishrane putem ispaše je spomenut ranije u lancu ishrane Bodenskog jezera (Nemačka), gde su nanoflagelatne populacije igrale glavnu ulogu u uklanjanju bakterija, ali su one bile relativno malobrojne zbog cilijatnih protozoa koje su se njima hranile. U dužim vremenskim razmacima i u poređenju sa drugim slatkovodnim sredinama, utvrđene su jasne korelacije između nanoflagelatnih populacija, brojnosti bakterija i koncentracije neorganskih nutrijenata (trofički status). U različitim slatkovodnim sredinama Berninger i sar. (1991b) su uočili da je brojnost nanoflagelatnih populacija varirala od 10^2 - 10^5 ćelija·ml⁻¹ što je bilo u direktnoj vezi sa razlikama u trofičkom statusu rezultirajući u obilju bakterija koje su dostizale brojnost od 10^5 - 10^9 ćelija·ml⁻¹. Brojnost nanoflagelata raste sa trofičkim gradijentom od oligotrofnih ka eutrofnim sistemima, što je direktno povezano sa porastom brojnosti bakterijskih populacija (Tabela 5).

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

Tabela 33 Brojnost heterotrofnih nanoflagelata u različitim slatkovodnim staništima (Berninger i sar., 1991b; preuzeto iz Sigeo, 2004)

Sredina	Lokalitet	Flagelate (ćelija·10 ³ ·ml ⁻¹)
Environment	Site	Flagellates (cells × 10 ³ ml ⁻¹)
Oligotrophic freshwater	Mountain becks ^a	0.5–1.5
Mesotrophic freshwater	Lake Constance ^b	0.5–8.1
Eutrophic freshwater	Priest pot ^a	50.0–180
Hypereutrophic freshwater	Soda lakes ^a	240–400

Varijacije u koncentraciji nutrijenata takođe mogu uticati na kvalitativan sastav flagelatnih zajednica. Istraživanje koje su radili Auer i Amdt (2001) na jezerima u Severnoj Nemačkoj je pokazalo da su promene u taksonomskoj strukturi zajednice HNF povezane sa trofičkim statusom. Tako je udeo hrizofita u eutrofnim jezerima iznosio oko 45% od ukupne HNF biomase i bio viši u poređenju sa udelom od 30% koliko je on iznosio u mezotrofnim jezerima. Distribucija HNF organizama je pod uticajem krupnijih organizama kao što su *Paraphysomonas*, *Quadricillia* i *Aulacomonas* (Tabela 4). Ovaj porast udela flagelata krupnijih od 10µm je rezultat veće količine hranljivih materija, pri čemu se mnoge veće vrste hrane algama i drugim flagelatnim vrstama, a ne samo bakterijama.

8.5.4. Nanoflagelate u kontroli bakterijskih populacija

Uprkos brzom rastu bakterija, njihova brojnost u pojedinačnim vodenim sredinama je relativno konstantna. Ova konstantnost ukazuje na to da su procesi nestajanja bakterija (bakteriofagi, ishrana protozoa i zooplanktona) čvrsto povezani sa produktivnošću u većini ekosistema. U mnogim slatkovodnim sistemima, ishrana bakterijama od strane heterotrofnih flagelata predstavlja jedno od glavnih ograničenja brojnosti bakterija. Ovo je istraženo poređenjem intenziteta ishrane flagelata i bakterijske produktivnosti.

8.5.4.1. Intenzitet (brzina) ishrane flagelata

Dva osnovna pristupa su bila korišćena da bi se odredila brzina ishrane flagelata:

Eksperimenti prekidanja ishrane (Grazer interruption experiments). Ovo uključuje praćenje promena u bakterijskim populacijama nakon što su nanoflagelate bile uklonjene ili inaktivirane. Uklanjanje flagelata se može izvesti selektivnom filtracijom uzoraka kroz pore koje su specifične veličine, odnosno takve veličine pora koja zadržava flagelate, ali propušta bakterije. Potom su praćene promene u bakterijskim populacijama u nekom vremenskom periodu (otprilike 12 sati). Intenzitet ishrane se računa poređenjem

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

promena u filtriranim i nefiltriranim uzorcima. Ovaj pristup je naročito koristan da bi se procenio udeo pojedinih grupa protozoa u smanjenju brojnosti bakterijske populacije u slučaju kada u sredini postoji mešovita zajednica protozoa.

Eksperimenti sa obeleženim uzorcima. Ovi eksperimenti uključuju merenje usvajanja i uklanjanja živih/mrtvih bakterija ili čestica koje su slične veličine kao i bakterije koristeći odgovarajući marker (obeleživač) koji će pomoći pri kvantifikaciji. Eksperimenti uključuju korišćenje radioaktivno ili fluorescentno označenih bakterijskih ćelija, i označenih inertnih čestica kao što su mikrosfere napravljene od lateksa. Korišćenje prirodnog čestičnog materijala (kao što su bakterije) ima prednost za razliku od veštačkog materijala, koja se ogleda u tome što prirodni materijali mogu biti praćeni nakon njihove ingestije i nestajanja.

Tabela 34 Intenzitet ispaše flagelata u slatkovodnim sistemima (Berninger i sar. 1991b; preuzeto iz Sigee, 2004)

Method of analysis	Clearance (nl HNF ⁻¹ h ⁻¹)	Uptake (food particles HNF ⁻¹ h ⁻¹)
Grazer interruption experiments		
Dilution	20.2	37.2
Dilution	0.1–20.0	10.0–100
Two-stage culture	1.0–4.0	2.3–9.2
Selective filtration	0.2–0.4	4.0–7.1
Tracer experiments		
Bacteria	0.2–1.0	10.0–75.0
Fluorescent microspheres	0.1–8.4	0.8–24.0
Fluorescent paint particles	1.0	2.0

Tabela 6 pokazuje procene (Berninger i sar. 1991b) brzine ishrane flagelata koje su dobijene u različitim istraživanjima. Ovo se može predstaviti na isti način kao brzina ispaše zooplanktona, bilo kao brzina usvajanja hranljivih čestica (broj čestica·ćelije⁻¹·h⁻¹) ili volumen ekstrahovane vode (nl·ćeliji⁻¹·h⁻¹). Kasnije se označava kao intenzitet prečišćavanja, i može se odrediti kao produkt usvajanja čestica i koncentracija čestica. Merene brzine ishrane flagelata variraju, verovatno zbog razlika u sastavu populacija HNF, dostupnosti hrane i eksperimentalnih procedura. Međutim, podaci ukazuju na to da unos hrane može dostići do 100 čestica po flagelatnoj ćeliji u toku jednog časa (100 čestica·ćelije⁻¹·h⁻¹).

8.5.4.2. Efekti ishrane flagelata na povećanje bakterijskih populacija

U eutrofnim vodama (HNF=10⁵ ćelija·ml⁻¹), maksimalni intenzitet ishrane flagelata koji se procenjuje na 100 čestica po ćeliji·h⁻¹ bi rezultovao u uklanjanju 10⁷ bakterijskih ćelija·ml⁻¹

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

h^{-1} . Iz tih razloga postoji veliki potencijal HNF u uklanjanju bakterija iz vodenih stubova u ovim akvatičnim sistemima.

Studije o bakterijskoj produkciji i ispaši HNF u različitim sredinama (Tabela 7, Sanders i sar., 1989) ukazuju da je brzina ispaše uglavnom manja od sledećih vrednosti odnosno od 10^5 bakterijskih ćelija $ml^{-1} \cdot h^{-1}$ u eutrofnim i do 10^4 u mezotrofnim vodnim telima. Brzina ispaše je iste veličine kao i bakterijska produkcija u eutrofnim (10^5 bakterija $ml^{-1} h^{-1}$) i mezotrofnim (10^4) sredinama, što ukazuje da ispaša od strane HNF može upotpunosti da uravnoteži bilo kakvo povećanje bakterijske biomase u akvatičnim sistemima. Gubitak izazvan ispašom od strane HNF izražen kao procenat bakterijske biomase jako varira u pojedinim sistemima i kreće se u intervalu od 0-200%. To ukazuje da se uticaj ispaše HNF na brojnost bakterija može značajno razlikovati i da najverovatnije zavisi od dinamičkih uslova koji vladaju unutar ekosistema.

Tabela 35 Bakterijska produkcija i gubici ishranom u slatkovodnim sistemima (Sanders i sar., 1989; preuzeto iz Sigeo, 2004)

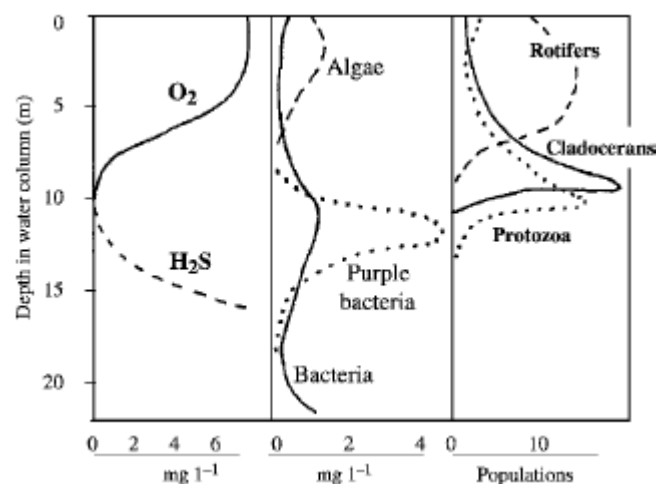
Bacterial production ($\times 10^6$ cells $ml^{-1} h^{-1}$)	Grazing loss ($\times 10^6$ cells $ml^{-1} h^{-1}$)	Grazing loss/bacterial production (%)	Sample site
0.12–0.56	0.06–0.51	42–121	Eutrophic Lake Frederiksborg (Denmark) ^a
0.01–0.81	0–0.33	0–200	Eutrophic Lake Oglethorpe (USA) ^b
0.01–0.10	0.01–0.60	11–162	Eutrophic Lake Oglethorpe (USA) ^c
0.11–0.25	0.06–0.29	23–122	Eutrophic Lake Anna (USA) ^d
0.01–0.02	0.01–0.02	76–168	Mesotrophic Lake Biwa (Japan) ^e
0.02–0.04	0.01–0.03	50–147	Meuse River (Belgium) ^f

8.5.5. Distribucija bakterija i protozoa u vodenom stubu

Na važnost bakterija kao izvora hrane za HNF i druge protozoe ukazuje njihov zajednički raspored u vodenom stubu stratifikovanih jezera. Tokom letnje stratifikacije u mnogim jezerima, diskretne skupine hemolitotrofnih i fotosintetskih (purpurne i zelene sumporne bakterije) bakterija su stacionirane malo ispod termokline gde su povezane sa lokalnim populacijama protozoa. U jezeru Belovod (Rusija), na primer, fotosintetske bakterije najviše su konzumirane od strane protozoa, što pokazuje izražen maksimum brojnosti populacije u ovom delu vodenog stuba (Slika 7). Lokacija protozoa na vrhu hipolimniona je očekivana obzirom da takva sredina zahteva toleranciju ovih organizama na anaerobne uslove. Iako kladocerni zooplankton igra veliku ulogu u korišćenju bakterija kao hrane, njihove populacije su ograničene na aerobne uslove u vodenom stubu i pokazuju

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

maksimalnu brojnost u gornjim slojevima vodenog stuba odnosno iznad protozoa. Kladocere imaju pristup hemolitotrofnim populacijama, ali ne i fotosintetskim bakterijama – koje nastanjuju sredinu sa anaerobnim uslovima.



Slika 7. Vertikalna distribucija kiseonika, vodoniksulfida i mikroorganizama u Jezeru Belovod, Rusija. Razmeri populacija (desno) – rotifere ($\times 10^2 \text{ l}^{-1}$) i kladocera ($\times 10^4 \text{ l}^{-1}$), protozoa ($\times 10^1 \text{ l}^{-1}$)

8.6. Ekološki uticaj protozoa: bentosno okruženje

Dno jezera i reka je prekriveno raznovrsnim organskim materijalom. Najvećim djelom ga čini raspadajući organski materijal (lišće, usitnjeni detritus), ali takođe sadrži velike populacije mikroorganizama od kojih neke (najčešće bakterije) predstavljaju važne izvore hrane za protozoe. Površina sedimenata tako nudi raznovrsna mikrostaništa za pokretljive protozoe, različita mesta za pričvršćivanje sesilnih vrsta, i gotov izvor složenih ugljenikovih jedinjenja za ove heterotrofne organizme. Bentosne protozoe su važan deo svih akvatičnih sistema, gde velike populacije i raznovrsne zajednice naseljavaju razne mikroniše (Fenchel, 1987). Iako je većina protozoa u sedimentu fiziološki aktivna, neke se pojavljuju i u fiziološkim neaktivnim fazama – pošto su tamo dospеле sedimentacijom iz vodenog stuba odnosno drugačijeg mikrostaništa. Mnoge od ovih inaktivnih faza se javljaju u obliku rezistentnih *cisti*, koje mogu da prežive nepovoljne uslove sredine kakva je na primer zima. Sve glavne taksonomske grupe protozoa su prisutne u ovim zajednicama, sa mnogim poznatim vrstama koje su karakteristične za bentosna staništa. Ovo naročito uključuje cilijatne (*Paramecium*, *Tetrahymena*, *Stentor*, *Blepharisma*, *Stylonychia*) i ameboidne (*Actinosphaerium*, *Amoeba proteus*) organizme. Flagelate su takođe dobro zastupljene u bentosnim staništima, sa populacijama mikroflagelata u sedimentima koje se kreću od 10^2 - 10^5 organizama u ml i nanoflagelata od 10^5 - 10^6 organizama u ml (Alongi, 1991). U prirodnim staništima, sastav vrsta bentosne zajednice protozoa varira sa lokalnim mikrostaništem i sezonskim promenama. Antropogene

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

aktivnosti takođe mogu uticati na bentosne organizme kao što je spomenuto, na primer, u uslovima organskog zagađenja i u specijalnim slučajevima kada su prisutna postrojenja za prečišćavanje otpadnih kanalizacionih voda.

8.6.1. Bentosna mikrostaništa

Bentosna mikrostaništa i njihove mikrobne zajednice zavise od lokalnih hidroloških uslova (toka reke), dostupnosti nutrijenata, tipa supstrata, prisustva viših biljaka i makroalgi, koncentracije kiseonika i mnogih drugih ekoloških faktora. Tri naročita primera se razmatraju u ovom delu – čvrste podloge (tipično aerobne), mikroaerofilna staništa i anaerobna staništa.

8.6.1.1. Zajednice protozoa koje naseljavaju čvrste podloge

Potopljene površine listova i drugih delova viših biljaka, algalni filamenti, detritus i kamenje obično imaju bogatu i raznovrsnu zajednicu protozoa. Ovi organizmi pripadaju dvema grupama, to jest mogu biti sesilne vrste i slobodnoživeće vrste koje traže plen.

Sesilne vrste. Sesilne vrste se tipično izdižu sa površine stabljikom i vrše ekstrakciju hranljivih čestica filtracijom (na primer peritrihne cilijate), ili pasivnom ekstrakcijom dozvoljavajući česticama da dođu u kontakt sa adhezivnim ručicama (na primer heliozoe). Peritrihne cilijate uključuju solitarne (*Vorticella*) i kolonijalne (*Ophyridium*) rodove. Mnoge pričvršćene cilijate imaju specijalizovane faze rasprostiranja (larve ili rojeve) koje su potpuno prekrivene cilijama i migriraju nakon oslobađanja, te omogućuju vrsti da se rasprostire na nove površine. U jednoj grupi cilijata, Suctoria, odrasli stadijum je trajno fiksiran za supstrat i kompletno je izgubio cilije. Cilije su samo prisutne u stadijumu larve ovog organizma, koji je jedini stadijum života prema kojem se on svrstava u cilijate. Mnogo veće vrste sesilnih cilijata imaju kontraktilne stabljike, koji im omogućavaju da se povuku iz turbulentnog dela vode, predatora kao što su pljosnati crvi i puževi i drugih nepovoljnih uticaja.

Pokretni, lutajući organizmi. Razne protozoe se kreću preko potopljenih površina, uključujući hipostomne cilijate (sa ustima koja se nalaze ventralno), hipotrihne cilijate, i bodonidne i euglenoidne flagelate. Ovi organizmi usvajaju različite organske materije, uključujući neživi organski materijal, i zakačene organizme kao što su bakterije, dijatomeje, modro-zelene i druge alge. Ove pokretne protozoe su veliki konzumenti biofilmova.

8.6.1.2. Mikroaerofilna staništa

Mikroaerofilna staništa imaju ograničenu količinu kiseonika. Obično se javljaju kao lokalizovane regije, na granici između aerobnih i anaerobnih staništa i uključuju gornje

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

slojeve sedimenta u oligotrofnim jezerima, raspadnuto lišće i regije hipolimniona u eutrofnim jezerima (Slika 5). Za ove regione je karakteristično prisustvo obligatnih i fakultativnih aeroba. Većinom u njima dominiraju vrste roda *Loxodes*, koje se skupljaju na koncentracijama kiseonika od 5%, plus mnoge druge protozoe, koje uključuju i sledeće:

Filtratori. Uključuju velike heterotrihne cilijate, [Spirosomum](#) i [Blepharisma](#) koje se filtraciono hrane bakterijama i malim eukariotskim ćelijama. Hipotrihne cilijate su takođe dosta zastupljena grupa, uključujući rodove kao što su *Stylonychia* i *Euplotes*, koje se hrane bakterijama. Među kolpopidima, gigantska protozoa *Bursaria* se hrani filtracijom i usvaja veliki plen, naročito druge cilijate.

Aktivni predatori uključuju karnivorne cilijate kao što su [Didinium](#) i [Lionotus](#) koji se hrane rotiferama i drugim cilijatama.

8.6.1.3. Anoksična staništa

Anoksična staništa, koja karakteriše kompletno odsustvo kiseonika, se sreću kao mikrostaništa u aerobnim i anaerobnim sedimentima. U aerobnim sedimentima, kiseonik difunduje iz vode u gornje slojeve sedimenta, gde ga troši mikrobna zajednica. Na određenoj dubini, slobodan kiseonik više nije dostupan za mikrobnu respiraciju i lokalizovani region postaje anoksičan. U anaerobnim sedimentima (tipično za eutrofna staništa) donji deo vodenog stuba je kompletno bez kiseonika, i on uopšte ne dopire do sedimenta, koji je anoksičan u potpunosti. Anaerobne protozoe, kao i bakterije, moraju da se oslanjaju na druge materije kao akceptore elektrona. Specifična fauna anaerobnih protozoa se pojavljuje u anoksičnim uslovima. Neke od ovih, kao pelobionti i diplomonadne flagelate su evoluirale u uslovima smanjenog kiseonika kakvi su bili na ranoj Zemlji i većina je od tad prilagođena na uslove smanjene količine kiseonika. Međutim, većina cilijata koje žive u ovim uslovima postale su sekundarno adaptirane na ovakve uslove modifikujući svoju respiratornu aktivnost. Takve anaerobne cilijate uključuju grupu kojoj pripadaju [Metopus](#), [Caenomorphia](#) i [Plagiopyla](#), koje su takođe karakteristične i za anaerobne marinske ekosisteme.

8.6.1.4. Protozoe u posebnim biološkim okruženjima

Posebne zajednice slatkovodnih protozoa se pojavljuju u specijalizovanim biološkim okruženjima, uključujući nakupine modro-zelenih algi, kolonije gljiva, bakterijske biofilme i površine viših biljaka. U krečnjačkim potocima, protozoe se primarno nalaze na sedimenu korita i površinama dominantnih makrofita. Protozoe su naročito koncentrisane u regijama starih listova i stabala, gde je brzina toka sporija. Tu se mogu naći amebe, flagelate i cilijate. Peritrihne cilijate se često nalaze pričvršćene za supstrat u tekućim vodama. U potocima sa srednjim i stabilnim protokom vode dominiraju

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

protozoe sa kontraktilnom stabljikom (na primer *Vorticella*). U potocima koji su podložni brzom vodenom toku, češće su peritrihe sa nekontraktilnim stabljikama (*Epistylis*).

8.6.2. Sezonske promene

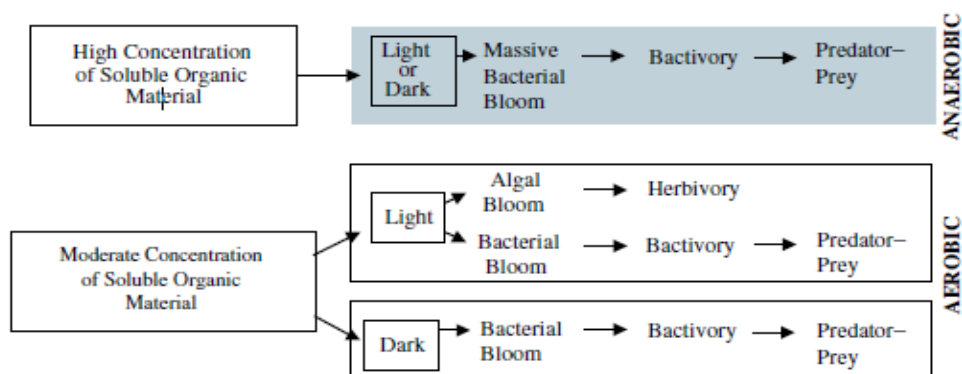
Značajne sezonske promene se dešavaju u bentosnoj fauni naročito umerenih eutrofnih jezera. Kod njih su sedimenti aerobni od oktobra do maja, kada nema stratifikacije. Tokom ovog perioda, cilijatne populacije mogu dostići brojnost od 3500 ćelija-ml⁻¹, pri čemu dominiraju rodovi *Loxodes* i *Spirostomum*. Većina jezerskih sedimenata ima rastresitu konzistenciju te protozoe mogu da prodru u dubinu do čak 6 cm ispod aerobnih uslova. Tokom letnje stratifikacije, uslovi u sedimentu postaju anaerobni i aerobne protozoe nestaju – prelazeći u formu cisti ili migriraju u gornje delove vodenog stuba. Dve vrste roda *Loxodes* migriraju u donji deo oksikline ili gornji hipolimnion, gde se pozicioniraju u zoni koja ima zasićenost kiseonikom od 0-10%. U leto, zone u sedimentu postaju pliće pa su anaerobne protozoe ograničene na gornji sloj od 1 cm gde vladaju redukujući uslovi i sulfidni joni se pojavljuju u visokim koncentracijama.

8.6.3. Organsko zagađenje

Slatkovodni vodotokovi zagađeni prolaznim prilivom rastvorljivih organskih zagađivača pokazuju karakterističnu sukcesiju mikroorganizama (Slika 8) u danima i nedeljama nakon nastanka zagađenja (Fenchel, 1987). Zagađenje obično podrazumeva izlivanje otpadnih voda sa farmi, komunalnih otpadnih voda i nekih specifičnih događaja poput izlivanja biljnih proizvoda, peptona i mleka. U svim slučajevim, inicijalna reakcija je prenamnožavanje bakterija gde zagađenje staništa uključuje velike količine organskog materijala. Eksplozija bakterijske populacije je masivna i brza te zahteva velike količine kiseonika. Odmah posle toga nastaju uslovi bez kiseonika i dolazi do sukcesije praćene pojavom populacija anaerobnih protozoa. Ako zagađenje organskim polutantima nije veliko, porast bakterijskih populacija je osrednji, pri čemu se razvijaju aerobne ili mikroaerofilne protozoe. Sukcesija organizama koji se pojavljuju uključuje primarno porast heterotrofnih flagelata koje su aktivne u konzumiranju bakterija, imaju veliku brzinu razmnožavanja i rasta i otporne su na privremene uslove niskog kiseonika i niske pH koji su rezultat naglog bakterijskog rasta. Flagelati brzo naseljavaju staništa bogata nutrijentima i značajno redukuju bakterijske populacije, tako da je potreba za kiseonikom umanjena i vodeno telo može da postane više oksigenovano. Ovo smanjuje neke od fizioloških ograničenja mikrobiološke zajednice, omogućujući da se postigne veći diverzitet. Sledeće u nizu su brzorastuće bakteriovorne cilijate (*Colpidium*, *Glaucoma*, *Cyclidium*) sa kojima se često pojavljuju male amebe. Nekoliko dana kasnije pojavljuju se spororastuće cilijate (hipotrihe) i amebe specijalizovane da proždiru veći i teže dostupan plen (filamentozne bakterije) ili su karnivorne (pleurostomatide i protostomatide). Ove

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

populacije protozoa, će biti praćene rotiferama, račićima i drugim malim metazoama – nastavljajući trend koji ide prema većim organizmima.



Slika 8. Odgovor mikroorganizama na prisustvo rastvorljivih organskih zagađujućih materija – uticaj parametara staništa. Koncentracija rastvorljivog organskog zagađivača i uslovi svetla/mraka utiču na odgovor mikrobne zajednice. Sa visokim koncentracijama zagađivača, celi akvatični sistem postaje anaeroban (sivi kvadrat) gde samo fakultativni i obligatni anaerobi mogu da prežive.

Organsko obogaćenje slatkovodnih staništa dakle aktivira dobro definisanu mikrobiološku sukcesiju: (i) Prenamnožavanje bakterija i povećana brojnost protozoa i metazoa; (ii) Inicijalna kolonizacija i rast r-selektovanih vrsta, praćeno dominacijom stabilnijim staništem od strane K-selektovanih vrsta – i u vezi sa tim progresivno povećavanje dimenzija i smanjenje brzine rasta; (iii) prelazak sa niskog diverziteta (rana heterotrofna dominacija flagelata) na visoki diverzitet (široki spektar cilijata i drugih protozoa). Nizak diverzitet se pojavljuje za vreme visokog privremenog stresa, kada su nivoi kiseonika niski, a kiselost visoka. Visok diverzitet se javlja kada je zajednica stabilnija, sa kompleksnijom mrežom lanaca ishrane.

U prisustvu svetla, i ako je organski materijal bogat fosforom i azotom, dolazi do cvetanja algi – odnosno do porasta brojnosti populacija modro-zelenih algi, dijatomeja i drugih algi. Njihovo cvetanje podržava populacije drugih protozoa, sem bakteriovornih, što dovodi do velikog diverziteta mikrobiološke zajednice .

8.6.4. Postrojenje za prečišćavanje otpadnih voda: aktivni mulj

Postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda imaju kontinuiran dotok čestične i rastvorene organske materije, i dizajnirana su tako da je konvertuju u formu koja može da bude odvojena od tečnosti koja sadrži malo nutrijenata. Tečni i čvrsti otpad se onda može odstraniti bez stvaranja velike štete na okolinu. Konverziju sirove otpadne vode do otpada koji se može odbaciti bez štetnog uticaja na životnu sredinu vrše zajednice

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

mikroorganizama. Dominantnu ulogu imaju bakterije i protozoe u vidu mikrobioloških zajednica koje se razvijaju u aktivnom mulju i filterima za prečišćavanje.

8.6.4.1. Zajednica protozoa

Aktivni mulj i kapajući filteri za prečišćavanje predstavljaju jedan od najekstremnijih tipova vodene sredine obogaćene nutrijentima, u kojoj se razvijaju specijalne zajednice protozoa koje se održavaju najvećim delom zahvaljujući bakterijama koje mogu da rastu u ovakvim vodama. Raznovrsna fauna uključuje amebe, heterotrofne flagelate i cilijate, kao i razne vrste malih beskičmenjaka. Populacije protozoa u aktivnom mulju karakteriše (Fenchel, 1987):

- Visoka gustina populacija, sa vrednostima visokim i do 5×10^4 ćelija·ml⁻¹
- Visok diverzitet vrsta, koji dostiže 50-70 vrsta koje su detektovane u aktivnom mulju i filterima za prečišćavanje
- [Visoka brojnost bakteriovornih protozoa](#) – cilijate su naročito brojne i uključuju pričvršćene peritrihe, scutico cilijate i tetrahimenine cilijate.

8.6.4.2. Uticaj operativnih parametara na dinamiku zajednice

Kontinualni dotok organske materije u sistem znači da ne dolazi do mikrobijalne sukcesije. Umesto toga, dolazi se do stabilnog stanja kad sukcesija prestaje i zavisi od materijala koji prolaze kroz sistem. Ovo zavisi od dva glavna međusobno zavisna operativna parametra – *protočnost* i dotoka organske materije.

Brzina protoka (protočnost). Prolazak otpadnih voda kroz sistem kontinuirano uklanja deo tečnosti iz bazena odnoseći tako i organizme. Njihovo stalno prisustvo u sistemu zavisi od njihove brzine rasta kako bi nadoknadili ove gubitke. U postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda sa visokom protočnošću dominiraju mikroorganizmi koji se brzo razmnožavaju, uključujući manje protozoe (kao što su flagelate) i manje cilijate. Nasuprot ovome, sistemi sa niskom protočnošću sadrže organizme koji se sporije umnožavaju i rastu, kao što su veće cilijate, pa čak i metazoe. Visoka protočnost se može posmatrati kao pritisak na mikrobnu zajednicu, sa dominacijom r-selektovanih vrsta i niskim diverzitetom. Nizak intenzitet protoka predstavlja uslove sa manje stresa, gde se prirodna sukcesija može odvijati do kasnih faza i zajednica postaje karakteristična sa k-selektovanim vrstama.

Brzina organskog dotoka. Porast u količini organske materije po jedinici zapremine tečnosti koja ulazi u sistem za preradu (organski dotok) dovodi do porasta bakterijskih populacija i veće potrebe za kiseonikom. Nivoi kiseonika u aktivnom mulju se vrlo brzo iscrpe i celi sistem može da postane anoksičan – uprkos procedurama da se održi aerisanim. U ovoj situaciji, anaerobne protozoe postaju dominantne, uključujući

8. Uloga protozoa u slatkovodnim sredinama

pelobionte i diplomonadne flagelate. Teško opterećeni sistemi sa niskim koncentracijama kiseonika zbog toga favorizuju ove flagelate, plus amebe i male cilijate koje se normalno nalaze u akvatičnim sredinama sa organskim zagađenjem. Kako se punjenje sistema organskom materijom smanji, aktivni mulj postaje supstrat za zajednicu većeg diverziteta u kojoj anaerobe zamjenjuju mikroaerofili i na kraju aerobne protozoe.

Use ECOBIAS logo pattern if applicable as table background (not mandatory)

9. EUTROFIZACIJA

Eutrofizacija predstavlja proces povećanja količine i dostupnosti neorganske materije u prirodnim vodenim ekosistemima, usled čega dolazi do intenzivnije bioprodukcije, odnosno ekstenzivnijeg rasta fotoautotrofa, algi i biljaka. Takva pojava se javlja pod uticajem prirodnih faktora (prirodna eutrofizacija), ali je daleko intenzivnija kao posledica aktivnosti čoveka (veštačka eutrofizacija). Ljudske aktivnosti ubrzavaju stopu i obim eutrofizacije, što je posebno izraženo kroz unos organogenih elemenata (azota i fosfora) u vodene ekosisteme iz različitih tačkastih i rasutih zagađivača, uslovljavajući deterioraciju kvaliteta vode i promene u sastavu vodenih zajednica. Na taj način se stvara veliki pritisak na vodne resurse, naročito vezano za njihovu eksploataciju u svrhu vodosnabdevanja, melioracije, akvakulture i rekreacije. Danas se procesu eutrofizacije, zajedno sa drugim negativnim antropogenim uticajima na životnu sredinu, pridaje ogroman značaj sa aspekta narušavanja homeostaze prirodnih ekosistema.

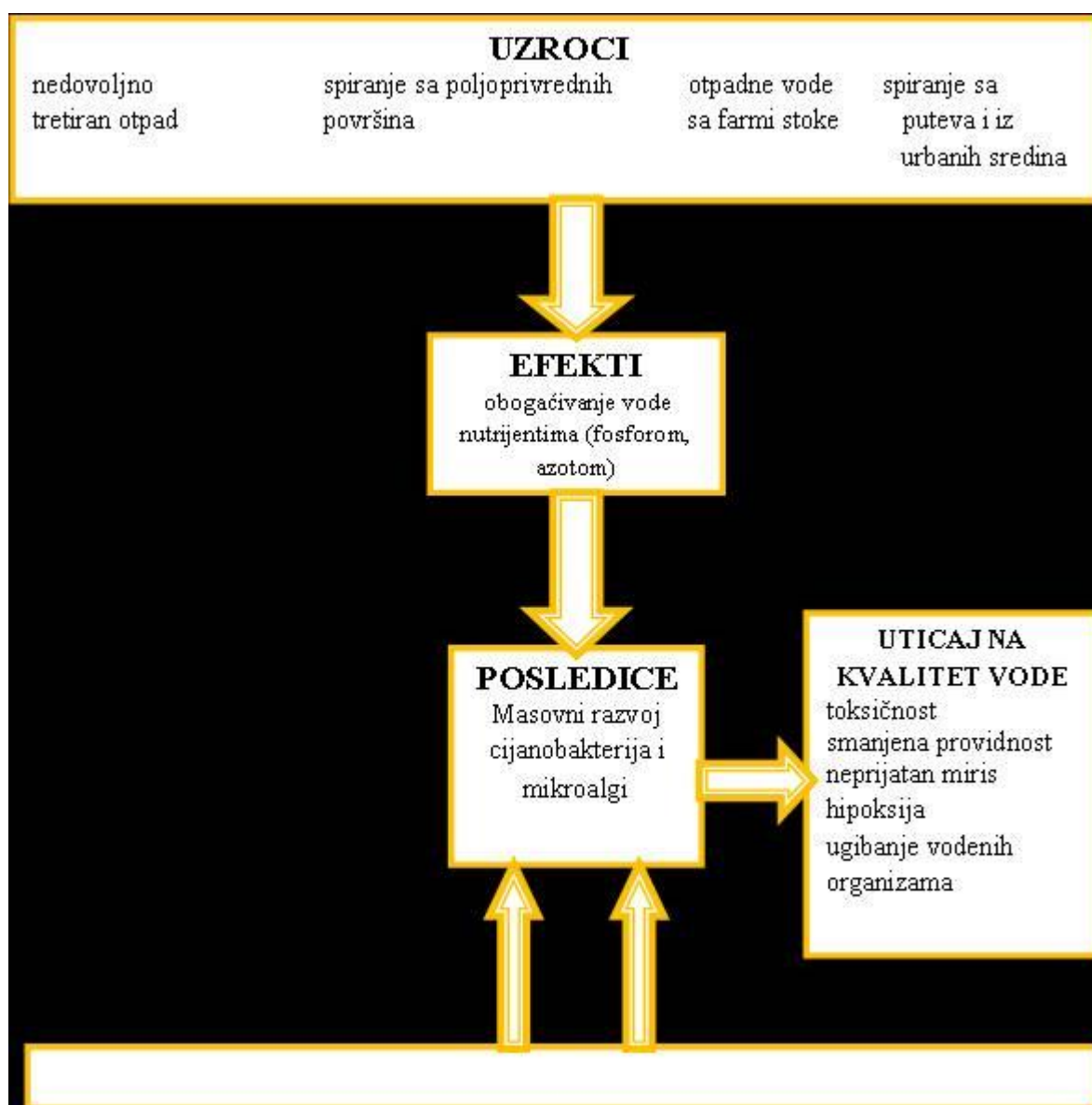
Uzroci eutrofizacije su uvek mnogobrojni i kompleksni (Šema1). Najznačajniji faktori koji utiču na ubrzavanje procesa eutrofizacije i povećanje frekvence cvetanja vode predstavlja proces tzv. "kulture eutrofizacije" (uzrokovane čišćenjem zemljišta, široke upotrebe fertilizatora, ispuštanja otpadnih voda različitog porekla, razvoja farmi i sl.), koji doprinosi nagomilavanju nutrijenata za koje se zna da stvaraju povoljne uslove za proliferaciju mikroalgi i cijanobakterija. Antropogene aktivnosti se smatraju najznačajnijim uzrokom eutrofizacije površinskih voda pri čemu taj uticaj može biti direktan, putem odlaganja otpada u vodene ekosisteme (komunalne, industrijske otpadne vode i vode sa poljoprivrednih površina), ili indirektan npr. krčenjem šuma.

Proces eutrofizacije dovodi do dramatičnih promena u biomasi i diverzitetu svih grupa mikroorganizama prisutnih u vodenoj sredini. Vodeni mikroorganizmi kao takvi imaju centralnu, ključnu ulogu u delovanju eutrofizacije, s obzirom da svojim aktivnostima utiču na promenu kvaliteta vode i mogu dovesti do narušavanja ekološkog balansa i stabilnosti ekosistema u celini. Ovakav proces se često može uočiti cvetanjem vode, odnosno vidljivim prenamnožavanjem cijanobakterija i algi u vodi, pojavom površinskog penjanja, mutnoćom vode, pojavom plivajućih biljnih delova i agregacijama bentosnih makrofita.

Eutrofizacija je posebno izražena u stajaćim vodama (lentičkim sistemima) poput jezera, akumulacija, rezervoara u odnosu na reke (lotički sistemi) koje se odlikuju kratkim vremenom retencije i odsustvom stratifikacije.

9.1. Nutritivni status površinskih voda

Za nutritivni status u površinskim vodama kakva su jezera, najveći značaj imaju tri neorganska elementa: fosfor, azot i silicijum. Visoka koncentracija tih elemenata u vodi promovira razvoj fitoplanktona, dovodeći do masovne proliferacije algalne biomase (visoka primarna produkcija) i rezultujući rast svih drugih organizama, uključujući bakterije, zooplankton i ribe (visoka sekundarna produkcija). Koncentracije nutrijenata i produktivnost su dva najvažnija elementa na kojima se zasniva klasifikacija trofičnosti vodenih ekosistema. Sa tog aspekta moguće je razlikovati pet osnovnih kategorija trofičnosti vode: ultra-oligotrofičan, oligotrofičan, mezotrofičan, eutrofičan i hipertrofičan.



Šema 1 Uzroci pojave masovnog razvoja potencijalno toksičnih cijanobakterija i uticaj na kvalitet vode za rekreaciju (Simeunović, 2010)

9. Eutrofizacija

Determinacija trofičkog nivoa u stajaćim površinskim vodama se najčešće vrši na osnovu graničnih vrednosti parametara kvaliteta vode kao što su koncentracija nutrijenata i biološka produktivnost. Šema koja je razvijena od strane OECD (organization for Economic Cooperation and Development) (1982) daje specifične kriterijume za jezera umerenog klimatskog područja i podrazumeva srednje godišnje vrednosti ukupnog fosfora, hlorofila a i providnosti merene Secci diskom (Tabela 1). Iako ova šema pruža koristan konceptualni okvir za definisanje kategorija trofičnosti, u praksi postoje određena ograničenja u klasifikaciji površinskih voda. Zbog varijabilnosti unutar takvih ekosistema, neka vodena tela mogu biti klasifikovana u jednu ili drugu kategoriju trofičnosti u zavisnosti koji glavni parametar se koristi. Zbog toga je od strane OECD (1982) razvijen sistem klasifikacije sa otvorenim graničnim opsezima po kojima se status svakog pojedinačnog vodenog tela određuje statističkim prilagođavanjem širokim opsezima gore navedenih parametara.

Veza između nutritivnog statusa i produktivnosti algi ukazuje da takav sistem nije apsolutan. Na primer, određeno jezero se na osnovu fizičko-hemijskih pokazatelja kvaliteta vode može svrstati u oligotrofične, ali na osnovu primarne produkcije on može biti mezotrofičan. U drugom slučaju jezera sa visokim nivoom nutrijenata imaju ograničenu bioprodukciju usled visoke acidnosti jezera, visokog sadržaja huminskih kiselina ili visoke zamućenosti, jer svaki od tih faktora može ograničiti rast algi. Razlike u klimatskim uslovima takođe doprinose ograničenjima ovog klasifikacionog sistema. Tropska jezera pokazuju značajne razlike u odnosu na jezera umerenog klimatskog područja u pogledu indikatora trofičnosti koja se odnosi na granicu između mezotrofične i eutrofične kategorije.

Značajan uticaj na trofički status stajaćih vodenih ekosistema imaju i lokacija, morfologija i hidrologija. Uticaj lokacije na nutritivni status i produktivnost podrazumeva uticaj lokalnih geografskih uslova (npr. sadržaj fosfata u supstratu), prirodu slivnog područja i unutrašnjih hidroloških karakteristika (vreme retencije, mešanja i sl.). Tako se u planinskim oblastima javljaju češće oligotrofna jezera (duboka jezera), dok se u tipičnom slučaju eutrofna jezera koja su i plića, javljaju u nizijama. Visok nutritivni status nizijskih jezera povezan je i sa antropogenim aktivnostima (poljoprivreda, komunalne i industrijske otpadne vode i sl.). Vreme retencije je drugi bitan faktor, jer u slučaju dugog perioda retencije dugoročno obogaćivanje nutrijentima može dovesti do postepene akumulacije neorganskih i organskih materija koja u jezero ulaze iz eksternih izvora. Usvajanje nutrijenata od strane fitoplanktona u epilimnionu vodi ka depoziciji u sediment, sa recikliranjem i otpuštanjem nazad u vodenu kolonu. Lentički sistemi nisu u potpunosti statični, jer i tu postoji određeni gubitak rastvorljivih i nerastvorljivih materija zbog zamene vode - kvantitativno definisane kao vreme zadržavanja vode. Vollenweider i Kerekes (1980) su pokazali da ukoliko je vreme zadržavanja vode u jezeru manje od 1 godine, akumulacija organske materije neće biti dovoljna da izazove povećanje trofičkog statusa. Dugoročne promene u trofičkom statusu jezera mogu na osnovu

9. Eutrofizacija

paleolimnoloških ispitivanja jezerskog sedimenta, biti u vezi sa tranzicijom populacije silikatnih algi što uslovljava postepene promene fizičko-hemijskih parametara. U mnogim slučajevima takve promene u populaciji silikatnih algi se vezuju za povećanje unosa nutrijenata više nego što tome doprinose procesi prirodne eutrofizacije.

Sa povećanjem koncentracije nutrijenata i produktivnosti, jezero ulazi u stabilno stanje eutrofije koje može trajati duži vremenski period (hiljadama godina). Na kraju jezero postaje previše

Tabela 36 Klasifikacija trofičnosti za slatkovodna jezera na osnovu fiksnih graničnih vrednosti koncentracije nutrijenata i fitoplanktonske produkcije na osnovu OECD sistema

Parametar	Kategorija trofičnosti				
	Ultra - oligotrofiča n	Oligotrofiča n	Mezotrofiča n	Eutrofiča n	Hipertrofiča n
Koncentracija nutrijenata (μgL^{-1})					
Ukupni fosfor	<4	4-10	10-35	35-100	>100
Ortofosfati*	<2		2-5	5-100	>100
DIN*	<10		10-30	30-100	>100
Koncentracija hlorofila a (μgL^{-1})					
Srednja koncentracija u površinskim vodama	<1	1-2,5	2,5-8	8-25	>25
Maksimalna koncentracija u površinskim vodama	<2,5	2,5-8	8-25	25-75	>75

9. Eutrofizacija

Parametar	Kategorija trofičnosti				
	Ultra - oligotrofiča n	Oligotrofiča n	Mezotrofiča n	Eutrofiča n	Hipertrofiča n
Secchi dubina (m)					
Srednja vrednost	>12	12-6	6-3	3-1,5	<1,5
Minimalna vrednost	>6	>3	3-1,5	1,5-0,7	<0,7

Eutrofizacija se može javiti i u tekućim vodenim sredinama, ali je u njima efekat visoke koncentracije nutrijenata značajno slabiji. Ključni razlog takvog uticaja je pokretljivost vodene mase, čime se kontinuirano vrši premeštanje suspendovane materije (kratko vreme retencije), što onemogućava nagomilavanje biomase fitoplanktona na određenom lokalitetu. Turbulencije i vertikalna strujanja vode u rekama i potocima takođe sprečavaju stratifikaciju, ograničavajući rast algi usled redukcije svetlosne izloženosti tokom ciklusa cirkulacije. Vertikalna cirkulacija u tekućim vodama takođe sprečava ekstremne mikroniše u vodenoj koloni, koje se vrlo često javljaju u eutrofnim jezerima. Međutim, bez obzira na sve navedene ograničavajuće faktore, u rekama se takođe može javiti cvetanja algi, fenomen povezan sa procesom eutrofizacije. Cvetanje se može javiti u uslovima kada je tok reke spor i kada je prisutna intenzivna insolacija.

Opseg koncentracija nutrijenata u rekama je značajno širi u odnosu na lentičke sisteme. Prema Agenciji za zaštitu životne sredine Velike Britanije klasifikacija reka na osnovu koncentracije nutrijenata podrazumeva šest nivoa trofije (Tabela 2)

Tabela 37 Klasifikacija procesa eutrofizacije u rekama prema Agenciji za zaštitu životne sredine Velike Britanije (1998)

Parametar	Kategorija trofičnosti					
	Veoma niska (1)	Niska (2)	Umerena (3)	Visoka (4)	Veoma visoka (5)	Prekomerno visoka (6)
Fosfati (μgL^{-1})	<20	20-60	60-100	100-200	200-1000	>1000
Nitrati (mgL^{-1})	<5	10-20	10-20	20-30	30-40	>40
Rastvoreni kiseonik (%)	80	70	60	50	20	<20
BOD (mgL^{-1})	2,5	4	6	8	15	N/A
Amonijak (mgL^{-1})	0,25	0,6	1,3	2,5	9	N/A

Biološka procena kvaliteta vode (uključujući i nutritivni status) u lotičkim sistemima uključuje istraživanja faune makroinvertebrata i fitobentosa koristeći sistem bodova koji kombinuju bogatstvo taksona i osetljivost vrsta prema obogaćivanju hranljivim materijama. Suprotno od toga u lentičkim sistemima se prevashodno za procenu kvaliteta vode koriste mikrobiološki pokazatelji, naročito fitoplankton.

9.2. Značaj algi u proceni kvaliteta vode

U proceni trofičkog statusa vode se pored koncentracije nutrijenata i produktivnosti fitoplanktona, mogu koristiti i drugi parametri. To pre svega podrazumeva korišćenje indikatorskih grupa algi i određivanje indeksa diverziteta algalnih vrsta. Identifikacija i brojnost algalnih taksona na određenom lokalitetu pruža korisne informacije o kvalitetu vode, pri čemu postoje predloženi specifični indeksi za procenu nutritivnog statusa stajaćih voda. Neki od tih količnika koriste odnos određenih grupa algi kao indeks trofičnosti, a bazirani su na činjenici da su dezmidijalne alge tipične za vode sa niskom koncentracijom nutrijenata, dok su kolonijske cijanobakterije, kokalne zelene algi i centrične dijatomeje karakteristične za eutrofne uslove.

Tako postoji Rawson-ov (1956) jednostavni količnik koji se odnosi na zastupljenost pojedinih grupa zelenih algi, a koji ukazuje na eutrofne uslove ukoliko je:

$(\text{Broj kokalnih vrsta})/(\text{Broj dezmidijalnih vrsta})$

9. Eutrofizacija

Drugi je Neygard-ov (1949) složeni mikroalgalni indeks (CI) gde je:

CI = Vrste cijanobakterija + Hlorokokalne vrste + Centrične dijatomeje

Broj dezmidijalnih algi

Ukoliko je $CI < 1$ to ukazuje na oligotrofni nivo, kada je CI u opsegu od 1-2,5 onda ukazuje na mezotrofni stepen, a $CI > 2,5$ je svojstven za eutrofičan stepen.

Treći indeks je Stockner-ov A/C indeks (1972) koji se odnosi na zastupljenost dijatomeja i podrazumeva odnos između penatnih bez rafe i centričnih silikatnih algi ($A/C < 1$ – oligotrofni status; A/C u opsegu 1-2 – mezotrofni status; $A/C > 2$ – eutrofni status). Međutim ovaj indeks bi trebalo oprezno uzeti u obzir s obzirom na to da može biti neprecizan u slučaju prisustva centričnih dijatomeja svojstvenih za eutrofne uslove.

Pored analize određenih grupa algi, pojedinačne vrste takođe mogu pružiti veoma korisne informacije o nutritivnom statusu vode. Tako stajaće vode sa visokom dostupnošću nutrijenata imaju tendenciju da se odlikuju manjim diverzitetom fitoplanktona, na šta ukazuje Reynolds (1990), koji predlaže da se diverzitet vrsta procenjuje korišćenjem Margalef-ovog indeksa (ds):

$$ds = (s-1)/\log_e N$$

s = broj vrsta, N = broj individua

9.3. Eutrofizacije površinskih voda i pojava cvetanja algi i cijanobakterija

Kao posledica procesa eutrofizacije, odnosno obogaćivanja vode neorganskim materijama, dolazi do periodičnog prenamnožavanja mikroalgi i povećanja ukupne biomase što se manifestuje kao pojava cvetanja algi poznata još pod nazivom „cvetanje vode“. Cvetanje mikroalgi kao globalni fenomen, tokom poslednjih decenija postala je sve učestalija, intenzivnija i raširenija pojava u površinskim vodama svih kontinenata. Cvetanje fitoplanktona nije pojedinačan, izolovan događaj, već predstavlja serije fluktuacija u kojima se biomasa i sastav fitoplanktonske populacije menja brzo i naglo. Među cvetajućim vodenim mikroalgama posebno su značajne cijanobakterije, jer je pokazano da u slatkovodnim ekosistemima širom sveta najčešće dolazi do proliferacije upravo cijanobakterijskih vrsta. Istraživanja su pokazala da u proseku oko 75% svih testiranih vodenih uzoraka sadrže predstavnike cijanobakterija. Smatra se da cijanobakterije nose takve specifične osobine koje im omogućavaju da dominiraju u većini fitoplanktonskih zajednica kao rezultat interakcije njihovih jedinstvenih svojstava i fizičko-hemijskih karakteristika samih vodenih ekosistema. Kao bitan parametar cvetanja

9. Eutrofizacija

obično se koristi koncentracija hlorofila a jer ukazuje na produkciju biomase mikroalgi u vodenom ekosistemu. Upravo Tett (1987) u svojim istraživanjima postavlja vrednost koncentracije hlorofil a od 100 mg m⁻³ kao donju graničnu vrednost za pojavu cvetanja vode, dok Wasmund (1997) smatra da nivo biomase od 0,2 mgL⁻¹ predstavlja graničnu vrednost za pojavu vidljive agregacije fitoplanktona, odnosno cvetanja. Prenamnožavanjem cijanobakterija i mikroalgi povećava se i ukupna biomasa fitoplanktona čiji je glavni pokazatelj upravo koncentracija hlorofila a. Gde god je u vodenim sredinama proliferacija jedne ili nekoliko vrsta cijanobakterija ili algi masovna, odnosno kada je koncentracija ćelija veća od 9.000 u mililitru vode, pojava se karakteriše kao cvetanje vode (engl. "water bloom").

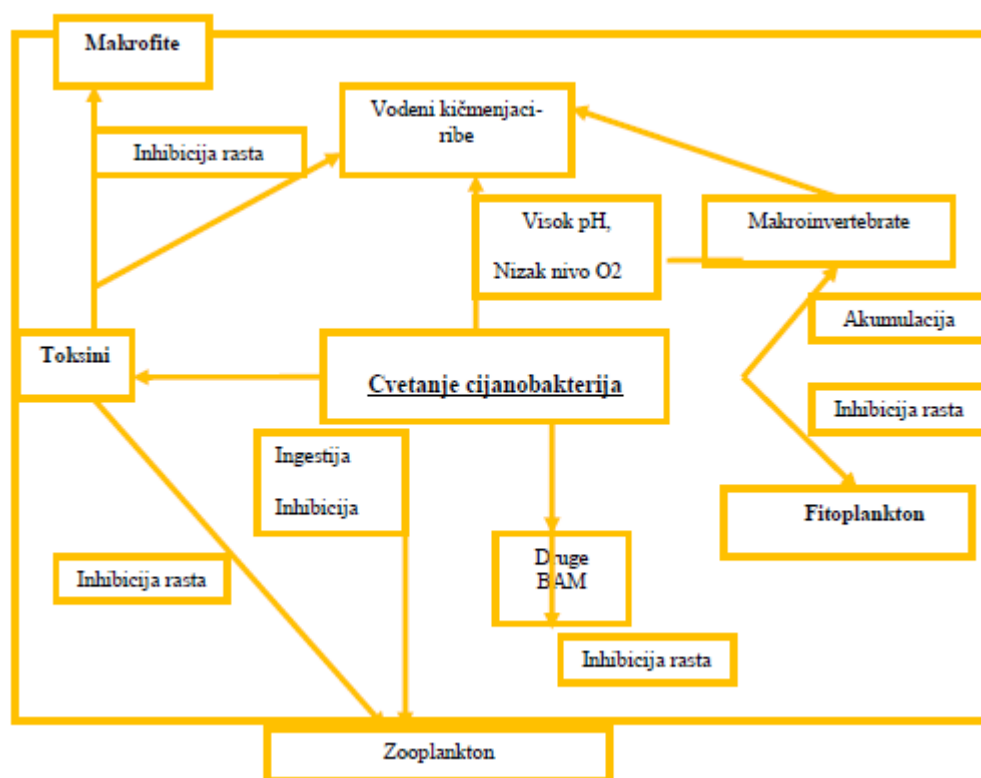
Masovne proliferacije fitoplanktona odnosno cvetanja vode se po Cloern-u (1996) generalno mogu klasifikovati u tri tipa:

1. periodičan sezonski događaj koji obično traje nedeljama;
2. neperiodičan događaj koji traje kraći vremenski period, odnosno danima;
3. izniman događaj za koji je tipično da ga izaziva nekoliko dominantnih vrsta i pri tom traje mesecima.

Pojava izraženog algalnog i cijanobakterijskog cvetanja se definiše kao opasno algalno cvetanje (eng. "harmful algal blooms"-HABs) ukoliko je povezano sa negativnim posledicama po okolinu, kao što su mortalitet živog sveta, smanjenje submerzne akvatične vegetacije, poremećaj stabilnosti ekosistema, negativan uticaj na lance ishrane (Šema 2), produkcija toksičnih supstanci i dr..

Iako je početkom 20 veka cvetanje mikroalgi, a posebno cijanobakterija bilo često zapažano u eutrofnim vodenim ekosistemima, takve pojave nisu tretirane kao važan problem povezan sa kvalitetom vode. Osim promena u životnoj sredini svesnost o destruktivnom ekološkom, ekonomskom i zdravstvenom delovanju opasnog cijanobakterijskog cvetanja dovelo je do uvođenja i unapređenja monitoringa kao i razmene podataka i iskustava na međunarodnom nivou. Vodeni ekosistemi bogati nutrijentima, kao što su eutrofna jezera, akumulacije i ribnjaci, predstavljaju sredine u kojima često dolazi do ubrzanog i masovnog razvoja cijanobakterija.

Kada su uslovi povoljni, čista voda za relativno kratko vreme (nekoliko dana) poprimi zelenu, odnosno modro zelenu boju usled ubrzanog razvoja ovih mikroorganizama, pri čemu mnoge vrste regulišući zapreminu i plutajući po površini vode stvaraju tanak film tj. sloj, ili modro zelene nakupine debljine i do nekoliko centimetara. Dodatni problem koji se javlja prilikom cvetanja cijanobakterija manifestuje se ne samo promenom boje nego i promenom mirisa vode. Poznato je da mnoge cvetajuće cijanobakterije proizvode materije neprijatnog mirisa poput geosmina (GSM) i 2-metilisoborneola (MIB) što dodatno utiče na promenu kvaliteta i upotrebne vrednosti vode.



Šema 2 Efekat cvetanja cijanobakterija i cijanotoksina na lanac ishrane u vodenoj sredini (Zurawell i sar., 2005)

Međutim, cijanobakterije ne mogu dugo da održe abnormalno visok nivo razvoja populacije tako da posle 1-2 nedelje počinju ubrzano da odumiru. Novo cvetanje se može opet desiti ukoliko su prisutni uslovi koji to omogućavaju i takva sukcesivna cvetanja su vrlo česta pojava u površinskim vodama širom sveta. Uslovi koji najčešće dovode do pojave cvetanja cijanobakterija su slaba pokretnost vode, temperatura vode od 15 do 30 °C, neutralno do alkalna sredina (pH od 6 do 9 i više) i naročito povećana koncentracija azota i fosfora. Cvetanje cijanobakterija se najčešće javlja tokom kasno prolećnog, letnjeg perioda i rane jeseni kada je temperatura vode nešto viša (21°- 27° C).

U slatkovodnim ekosistemima umerenog klimata najčešće proliferiraju vrste sledećih cijanobakterijskih rodova: *Mycrocystis*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Nostoc*, *Rivularia*.

9.4. Uloga faktora spoljašnje sredine u pojavi cvetanja algi

Veliki broj faktora sredine (fizički, hemijski i biološki faktori) utiče na proliferaciju mikroalgi i cijanobakterija. Među njima je najvažnije odrediti koji je od tri faktora ključni (svetlost, azot ili fosfor) u kontroli razvoja biomase fitoplanktona, odnosno cijanobakterija u svakom posmatranom vodenom ekosistemu. U tom smislu je potrebno utvrditi sledeće:

9. Eutrofizacija

1. Koji faktor određuje ukupni kapacitet za razvoj cijanobakterija i mikroalgi
2. Koliki je nivo tog kapaciteta?

Jedan od prilaza u rešavanju datog problema dao je Round (1965) kroz odnos azota, fosfora i drugih organogenih elemenata:

C	H	O	N	P
42	8.5	57	7	1

Među navedenim elementima, kiseonik i vodonik nikada nisu u manjku (nisu ograničavajući) u akvatičnim ekosistemima, dok je ugljenik dostupan u formi ugljen-dioksida. Problem predstavljaju azot i fosfor. Naime azot u vodu obično dospeva spiranjem sa tla, netretiranim otpadnim vodama ili je biološkog porekla. Fitoplankton ga koristi obično u neorganskom obliku (nitrati, nitriti i amonijak). U pojedinim aridnim kontinentalnim oblastima, azot je glavni ograničavajući faktor rasta fitoplanktona. Međutim, kada je reč o cijanobakterijama one mogu nadomestiti taj nedostatak fiksacijom atmosferskog azota. To praktično znači da nedostatak rastvorljivog neorganskog oblika azota može pospešiti dominaciju i razvoj azotofiksirajućih predstavnika cijanobakterija kao što su na primer vrste rodova *Anabaena* i *Aphanizomenon*. S druge strane azotofiksacija je energetski zahtevan proces, zbog čega neće biti efikasan u mutnijim vodama, kao što su vode u kojima je došlo do pojave cvetanja.

Što se tiče fosfora, on u površinske vode dospeva istim putevima kao i azot. Iako razvoj biomase fitoplanktonskih organizama zahteva sedam puta manju količinu fosfora u odnosu na azot, ovaj element je najčešće ključni ograničavajući faktor razvoja fitoplanktona u akvatičnim sredinama. Cijanobakterije, kao i mnogi drugi fitoplanktonski organizmi, razvili su mehanizme deponovanja fosfora. Kao posledica toga može doći do umnožavanja jedne ćelije u 8 ili 16 ćelija bez usvajanja fosfora. Biomasa se tako može povećati deset pa i više puta, zbog čega se na osnovu količine raspoloživog fosfora ne može predvideti mogući razvoj biomase. S obzirom na takve činjenice, od najvećeg značaja je praćenje i kontrola unosa fosfora u vodene ekosisteme. Podaci ukazuju na to da je fosfor ključni faktor procesa eutrofizacije i da su koncentracije fosfora veće od $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ dovoljne da izazovu pojavu cvetanja cijanobakterija u vodenim ekosistemima.

Svetlost je takođe važan, odnosno često kritičan faktor u razvoju fitoplanktona, na koji indirektno utiče i koncentracija nutrijenata. Gornja granica gustine ćelija fitoplanktona, kada dalji rast više nije moguć, postiže se onda kada ćelije počnu da zaklanjaju jedna drugu. To se dešava iz tog razloga što u takvim uslovima gustine populacije, pojedinačne ćelije ne primaju dovoljnu količinu svetlosne energije. Raspoloživost nutrijenata često utiče na ograničavanje uslova osvetljenosti. Naime, ukoliko su nutrijenti ograničavajući,

9. Eutrofizacija

fitoplankton ne može da se razvija do onog nivoa koji bi inače bio moguć u datim uslovima osvetljenosti. Međutim, ukoliko je prisutna preobilna količina nutrijenata, fitoplankton će dostići granični nivo biomase, koja je određena datim svetlosnim uslovima. Dalje povećanje koncentracije nutrijenata više neće imati efekta na biomasu fitoplanktona, kao što je to obično slučaj u hipertrofnim vodama. U mutnim vodenim sredinama, gde je dostignut svetlosni ukupni kapacitet, cijanobakterije su često dominirajuće, jer pri niskom intenzitetu svetlosti one imaju veći nivo rasta nego mnogi drugi fitoplanktonski organizmi

9.5. Toksična cvetanja cijanobakterija

Najveći problem vezan za pojavu cvetanja cijanobakterija predstavlja produkcija različitih toksičnih jedinjenja, ali je ovde važno naglasiti da nisu sva cvetanja vode toksična. Čak i kada je takvo cvetanje izazvano poznatim producentima toksina, može da se desi da nema produkcije toksina ili se toksini proizvode u tako niskim koncentracijama da ne mogu biti detektovani. S obzirom na to da cijanotoksini mogu biti letalni u relativno malim količinama, svaka pojava cvetanja cijanobakterija u vodenim ekosistemima se mora posmatrati kao potencijalna opasnost po živi svet. Donedavno se smatralo da je svega 10% cvetanja toksično, međutim novija istraživanja u Evropi, Kanadi i Americi su pokazala da je taj procenat znatno veći i da se kreće od 45% do 75%. Veliki broj ekoloških faktora (temperatura, svetlost, koncentracija nutrijenata i dr.) može uticati na povećanje rasta cijanobakterija i algi, na njihovu fiziološku aktivnost, pa samim tim i na produkciju i oslobađanje toksičnih produkata.

Svojsvo cijanobakterijske populacije da proizvode toksične supstance i mnogobrojni primeri vezani za zdravstvene probleme ljudi i životinja, stavilo je cijanobakterije na prioritetnu poziciju u praćenju kvaliteta vode u mnogim zemljama sveta. Zbog toga je sve izraženija potreba da se redukuju ili spreče neželjeni efekti cijanobakterija i njihovih toksina kroz formulaciju parametara koje je neophodno meriti i kroz monitoring procesa eutrofizacije vodenih ekosistema, naročito onih koji služe kao resursi za vodosnabdevanje, akvakulturu, rekreaciju i melioraciju. Monitoring cvetanja odnosno prenamnožavanja cijanobakterija i algi u vodenim ekosistemima, podrazumeva redovno merenje biomase ovih mikroorganizama prisutnih u vodi i ispitivanja prisustva određenih vrsta cijanobakterija, odnosno i kvantitativnu i kvalitativnu analizu fitoplanktona. S obzirom da je za cijanobakterije, kao i za sve mikroalge, karakteristično prisustvo pigmenta hlorofila a, u slučaju dominacije cijanobakterija u ukupnom fitoplanktonu koncentracija hlorofila a se, pored koncentracije fikobilinskih pigmenata, najčešće koristi za određivanje cijanobakterijske biomase tokom cvetanja. Tako je za oligotrofna jezera karakteristična koncentracija hlorofila a od 1 do 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, u eutrofnim jezerima ta

9. Eutrofizacija

koncentracija se kreće do $300 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, dok maksimalna koncentracija hlorofila a u hipertrofnim jezerima može dostići vrednost od $3.000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Eutrofizacija se u mnogim zemljama Evrope i Amerike posmatra kao veoma značajan problem zagađenja životne sredine, odnosno vodenih ekosistema. Dosadašnja istraživanja su pokazala da je u Aziji i Pacifičkom regionu 54% jezera eutrofično, u Evropi je to 53%, u Severnoj Americi 48%, u Južnoj Americi 41% dok je u Africi taj procenat najniži, 28%. Zbog toga se u takvim regionima u cilju prevencije procesa eutrofizacije, vrše redovna merenja određenih parametara i uvode se mere zaštite u smislu sprečavanja ispuštanja nutrijenata iz otpadnih voda i sa poljoprivrednih površina.

Pojava cijanobakterijskog cvetanja u površinskim vodama za rekreaciju i vodosnabdevanje predstavlja posebnu opasnost po ljudsko zdravlje, što uslovljava odgovorno formulisanja procene zdravstvenog rizika povezanog sa cvetanjem. U tu svrhu mogu da se koriste različiti prilazi i jedan od takvih, Procena zdravstvenog rizika (HRA - Health Risk Assessment) razvijen je od strane Američke Nacionalne naučne akademije, a prihvaćen je i primenjen i u drugim zemljama.

HRA podrazumeva nekoliko osnovnih koraka:

1. Identifikacija opasnosti – podrazumeva procenu za cijanobakterije da izazivaju po zdravlje negativne efekte, određivanje nivoa ćelija i toksina prisutnih u vodi;
2. Izlaganje riziku – podrazumeva određivanje mogućnosti i načina izlaganja ljudi kontaminiranoj vodi;
3. Rizične doze – kada su vode za rekreaciju i pijaće vode u pitanju ne postoje standardi za većinu cijanobakterijskih vrsta i njihovih toksina, što predstavlja otežavajuću okolnost u proceni zdravstvenog rizika. Procena rizičnih doza je posebno korisna u određivanju najvišeg nivoa izlaganja pri kojem se ne javljaju po zdravlje negativni efekti (kao što to čini npr. Direktiva Svetske zdravstvene organizacije za NOEL -No Observable Effect Level);
4. Karakterizacija rizika – ukoliko rezultati monitoringa prevazilaze vrednosti date direktivom onda postoji povećan rizik za pojavu po zdravlje negativnih efekata.

9.6. Cijanotoksini - tipovi i karakteristike

Toksini cijanobakterija su biohemijski i funkcionalno raznovrsna grupa fiziološki aktivnih jedinjenja. Njihova produkcija, nagomilavanje u ćelijama i izlučivanje u spoljašnju sredinu nisu slučajni, već predstavljaju deo evolutivnog procesa tokom kojeg se cijanobakterije adaptiraju na specijalne potrebe ili promene u spoljašnjoj sredini. Smatra se da je ekspresija ekstrahromozomalne-plazmidne DNK regulacioni mehanizam za produkciju toksina kao odgovor na prisustvo predatora ili stresogenih faktora u spoljašnjoj sredini.

9. Eutrofizacija

Istraživanja pokazuju da približno polovina cijanobakterijskih vrsta, izazivača cvjetanja voda, ima toksično dejstvo. U slatkovodnim ekosistemima najveći broj primera trovanja biocenoza vezan je za cijanobakterijske vrste *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae* i *Anabaena flos-aquae*. Međutim, različiti sojevi iste cijanobakterijske vrste mogu proizvoditi više različitih tipova toksina, kao što je slučaj sa vrstom *Anabaena flos-aquae* čiji sojevi proizvode različite tipove anatoksina (a, b, c), dok neki drugi sojevi te iste vrste mogu biti netoksični. Produkcija cijanotoksina može ali i ne mora biti vezana za pojavu cvjetanja vode jer prirodne populacije mogu da sadrže mešavinu netoksičnih i toksičnih cijanobakterija. Međutim, istraživanja su pokazala da prisustvo cijanobakterija u koncentraciji koja prelazi 1.000 ćelija po mililitru predstavlja potencijalnu opasnost i ukazuje na moguće prisustvo cijanotoksina u koncentracijama štetnim za organizme. Cijanotoksini se najčešće oslobađaju iz uginulih ili povređenih ćelija i u vodi ostaju nepromenjeni kratko vreme, tako da se njihova koncentracija smanjuje prirodnim procesom degradacije (bakterije, svetlost, UV i dr.) već posle nekoliko dana.

Toksične cijanobakterije i njihovi sekundarni metaboliti, cijanotoksini, predstavljaju veliku opasnost po zdravlje ljudi i životinja. Trovanje cijanotoksinima može da bude posledica direktnog kontakta sa njima. Toksini mogu da se akumuliraju u tkivima vodenih kičmenjaka i beskičmenjaka i da preko lanaca ishrane dospeju u organizam sisara kod kojih izazivaju različite poremećaje. Problemi koji mogu nastati kod ljudi u kontaktu sa toksinima su razne vrste dermatitisa i tumora na koži, gastrointestinalni poremećaji, hepatoenteritisi, atipične pneumonije i neurološki problemi. Novija istraživanja su pokazala da cijanotoksin BMAA (*-metilamino-alanin), koji je pronađen kod pojedinih vrsta roda *Nostoc*, može biti uzročnik neurodegenerativnih bolesti (amiotrofična lateralna skleroza, Parkinsonova bolest i Alchajmerova bolest) jer je BMAA nađena u moždanom tkivu obolelih.

Laboratorijska ispitivanja su pokazala da produkcija toksina kao produkata sekundarnog metabolizma, kod cijanobakterija naročito zavisi od soja, od starosti kulture, od sastava podloge, prisustva vezanog azota, prisustva predatora, a pre svega zavisi od prisustva stresogenih faktora koji mogu da se manifestuju kao nagla promena pH, temperature, svetlosti itd

Cijanotoksini su prema načinu delovanja, odnosno prema tipu toksičnosti koji izazivaju kod ljudi i životinja, u njihovim organima ili ćelijama, podeljeni u 4 velike klase: hepatotoksini, neurotoksini, dermatotoksini i lipopolisaharidni endotoksini.

a) HEPATOTOKSINI - mikrocistini, nodularini i cilindrospermopsin

Smatra se da cijanobakterije proizvode negde oko 300-400 poznatih biološki aktivnih peptida. Najčešće prisutni u toku cvjetanja voda su ciklični peptidni toksini koji pripadaju familijama mikrocistina i nodularina. Ove grupe toksina izazivaju hemoragiju i druge poremećaje jetre i stimulišu rast ćelija tumora. Mikrocistini, poznati još pod imenom

9. Eutrofizacija

cijanoginozini, su najšire rasprostranjeni cijanobakterijski toksini u vodi i najodgovorniji su za trovanje životinja i ljudi. Takođe, hepatotoksična cvetanja se mnogo češće javljaju u prirodi nego neurotoksična cvetanja. Producenti mikrocistina su mnoge vrste, odnosno sojevi rodova *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Anabaenopsis*, *Phormidium*, *Synechococcus*, *Radiocystis*, *Chroococcus*, *Hapalosiphon*, dok je za neke vrste roda *Nodularia* karakteristična produkcija različitih tipova toksina nodularina. Prva identifikacija strukture cijanobakterijskog cikličnog peptida-toksina izvršena je osamdesetih godina prošlog veka, pri čemu se od tada broj strukturno okarakterisanih toksina drastično povećao. Tokom 1988. godine bilo je svega 10-tak okarakterisanih i dokumentovanih mikrocistina, međutim do 2015. godine taj broj je povećan tako da je trenutno poznato preko 150 različitih mikrocistina i njihovih analoga pri čemu je konstatovano da je mikrocistin – LR najčešće prisutan toksin rodom cvetanja. Mikrocistini se ne sintetišu kao ostali proteini u ćeliji već u njihovoj sintezi učestuje uzima grupa enzima, neribozomalne peptidil sintetaze, zbog čega ovi toksini sadrže brojne neobične aminokiselinske rezidue. Aminokiselina ADDA, (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoksi-2,6,8-trimetil-10-fenildeka-4,6-dienoična kiselina je najneobičnija struktura ovih cijanobakterijskih toksina, a jedinstvena je za cijanobakterije. Geni odgovorni za sintezu su lokalizovani zajedno na DNK i poznati su kao mikrocistin (mcy) operon. Uloga mikrocistina u ćelijama cijanobakterija nije sasvim razjašnjena. Smatra se da služe kao unutarćelijski helatori gvožđa, zatim da imaju ulogu u ćelijskoj komunikaciji (quorum sensing), ulogu u svetlosnoj adaptaciji ćelije i sl. Najčešće detektovane strukturne molekularne forme mikrocistina su : mikrocistin-LR, mikrocistin-LA, mikrocistin-YR, mikrocistin-RR i mikrocistin-YA (Slika 1). Toksičnost mikrocistina ogleda se kroz inhibiciju serin/treonin protein fosfataza 1 i 2A, enzima koji su posebno važni u regulaciji genetičkih, metaboličkih i fizioloških procesa kod svih živih organizama. Posebno osetljive prema ovim toksinima su ćelije jetre, jer kada jednom uđu u hepatocite mikrocistini se lokalizuju u jedru, gde ADDA lanac toksina blokira aktivno mesto jedarnih protein fosfataza. Na taj način toksikacija dovodi do poremećaja strukture i funkcije jetre, nekroze hepatocita i na kraju do hemoragije. Osim oštećenje jetre u slučaju akutnog trovanja mogu se javiti i hipoksemija, kolaps srca i šok. Izlaganje ćelije sisara niskim koncentracijama mikrocistina takođe predstavlja opasnost jer dovodi do hroničnog efekta izazivajući pojavu tumora, zbog čega su ovi toksini označeni kao promoteri karcinoma. Naime, epidemiološka ispitivanja ukazuju na pozitivnu korelaciju između cvetanja cijanobakterija i koncentracije mikrocistina u izvorima za vodosnabdevanje i broja slučajeva kancera jetre kod ljudi u nekim oblastima Kine i Srbije. Smatra se da inhibicija protein fosfataza utiče na aktivnost enzima protein kinaza, što rezultira intenziviranjem deobe ćelija i pojave kanceroznog rasta tkiva. Mikrocistini su ekstremno stabilni u vodi zbog njihove hemijske strukture, što podrazumeva da mogu opstati i u toplim i u hladnim vodama i mogu tolerisati drastične promene hemizma vode, uključujući i pH vrednost. Koncentracije mikrocistina se tipično kreću između 1 i 100 µgL⁻¹ u otvorenim vodenim ekosistemima tokom povećanog cijanobakterijskog rasta,

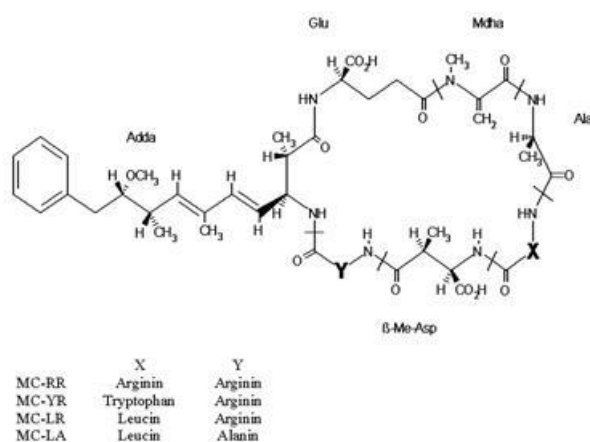
9. Eutrofizacija

međutim koncentracije veće od 25 mgL⁻¹ su takođe detektovane i mogu biti čak i veće tokom pojave sojeva sa većim ćelijskim sadržajem mikrocistina.

Mikrocistini mogu ispoljiti akutnu toksičnost kod ljudi u zavisnosti od koncentracije kojima je čovek izložen u prirodnim sredinama. Čovek može biti eksponiran mikrocistinima konzumacijom pijaće vode koja u sebi sadrži ove toksine kao i konzumiranjem kontaminirane hrane. Postoje brojni podaci o akumuliranim toksinima u tkivu riba, zatim marinskih i slatkovodnih školjki koje se koriste u ljudskoj ishrani. Istraživanja su takođe pokazala da i biljke (npr. žitarice) mogu predstavljati rizičnu hranu, s obzirom da i one mogu biti izložene visokim koncentracijama cijanotoksina prisutnih u vodi koja se koristi za njihovo navodnjavanje.

Letalna doza LD₅₀ za mikrocistin, primenjen intraperitonealno, je oko 50 mg suve mase ćelija kg⁻¹ telesne mase miševa. Chorus i Fastner (2001) su procenili da za dete težine 10 kg akutna letalna doza može biti uneta ingestijom 1-2 litre cijanobakterijske suspenzije koja sadrži 25 mgL⁻¹ mikrocistina (prema tome LD₅₀ je 5 mg po kg telesne težine ili 50 mg za dete težine 10 kg).

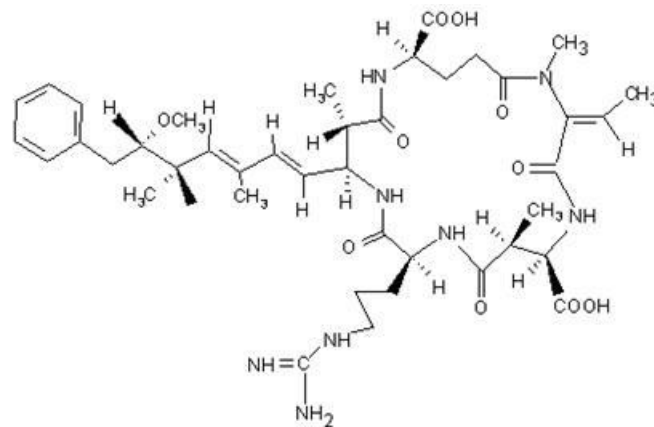
Svetska zdravstvena organizacija (WHO) je 1998. ustanovila dozvoljenu koncentracije mikrocistina- LR u pijaćoj vodi koja iznosi 1 µgL⁻¹.



Slika 1 Strukturne forme cijanotoksina mikrocistina (Chorus i Bartram, 1999)

Cijanobakterijska vrsta *Nodularia spumigena* je glavni producent nodularina, cikličnog pentapeptida (Slika 2) izuzetno visoke toksičnosti. Letalna doza LD₅₀ nodularina je oko 25 mg suve mase ćelija kg⁻¹ telesne mase miševa, dok je za čist nodularin LD₅₀ približno 70 µgkg⁻¹ primenjen intraperitonealno kod miševa.

9. Eutrofizacija



Slika 2 Struktura cijanotoksina nodularina (Chorus i Bartram, 1999)

Kao što je pomenuto hepatotoksini inhibiraju serin-treonin protein fosfataze, enzime koji su odgovorni za odvajanje fosfatnih grupa od drugih proteina u procesu označenom kao defosforilacija. Inhibirajući ove enzime mikrocistini dovode do poremećaja u balansu između procesa fosforilacije i defosforilacije u eukariotskim ćelijama, odnosno izazivaju hiperfosforilaciju proteina. Jetra je posebno osetljiva prema tim toksinima jer za razliku od nekih drugih tipova ćelija, ti peptidi mogu lako da prodru u ćelije jetre, bivajući specifično uzeti preko transportnog puta žučnih kiselina. Toksini oštećuju jetru tako što utiču na citoskelet, koji se sastoji od povezanih proteinskih filamenata. U zdravoj ćeliji, iako se ti proteinski filamenti u osnovi skupljaju, izdužuju, disociraju i asociraju, generalno veličina citoskeleta ostaje uvek konstantna. Mikrocistini i nodularini izazivaju kolaps citoskeleta zbog toga što je balans fosfatnih grupa na proteinima citoskeleta poremećen, i ćelije jetre se deformišu. Ćelije jetre, kao i ćelije kapilara se razvlače, što dovodi do oslobađanja krvi, krv se nakuplja u jetri i dolazi do smrti usled krvarenja.

Istraživanja su pokazala da najjači hepatotoksični efekat ima microcistin-LR koji izaziva brzu deformaciju izolovanih hepatocita pacova, predstavljajući na taj način brzo delujući toksin sa smrtnim ishodom u slučaju akutnih toksikoza. Ovaj toksin izaziva kolaps hepatičnog parenhima, i histopatološki i biohemijski nalazi ukazali su da oksidativni stres može da igra značajnu ulogu u patogenezi hronične toksikoze microcistinom.

Inkubacija izolovanih hepatocita sa peptidnim toksinom pokazala je da ćelije gube njihov sferičan oblik i postaju deformisane, jer inhibicija protein fosfataza remeti filamente intermedijarne strukture hepatocita.

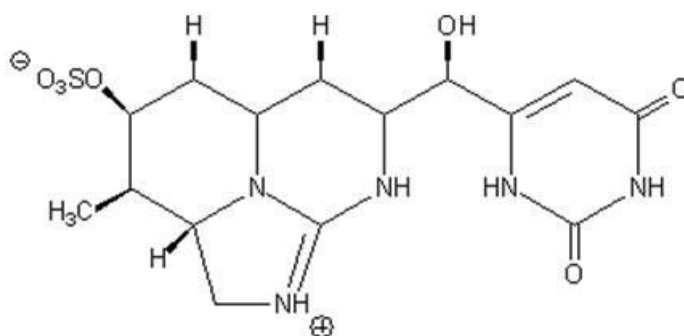
Trovanje hepatotoksinima prepoznaje se po znacima kao što su: opšta slabost, bledilo, teško disanje, šok, abdominalni bolovi, nadutost, povraćanje, dijareja, ubrzan ili slab puls.

Cilindrospermopsin, ciklični alkaloid guanidina (Slika 3) izolovan je iz cijanobakterijske vrste *Cylindrospermopsis raciborskii* pri čemu se njegova toksičnost ispoljava preko inhibicije sinteze proteina i izazivanja oštećenja bubrega, slezine, creva, srca, timusa. Osim

9. Eutrofizacija

toga ovaj toksin izaziva proces nekroze hepatocita što dovodi do ozbiljnih oštećenja jetre. Takođe izaziva inhibiciju citohroma P450 koji je uključen u zaštitu jetre od toksičnih metabolita (Falconer, 1998). Ovaj toksin ispoljava negativan efekat i na druge ćelije različitih tkiva zbog čega se često svrstava u citotoksične cijanotoksine.

Akutna toksična doza cilindrospermopsina kod belih miševa primenjena intraperitonealno se kreće od LD50 2 mg·kg⁻¹ nakon 24h do 0,2 mg·kg⁻¹ nakon 5 dana. Srednja, letalna, oralna doza sa liofiliziranom kulturom *C. raciborskii* u slučaju belih Swiss miševa kreće se oko 6 mg·kg⁻¹.



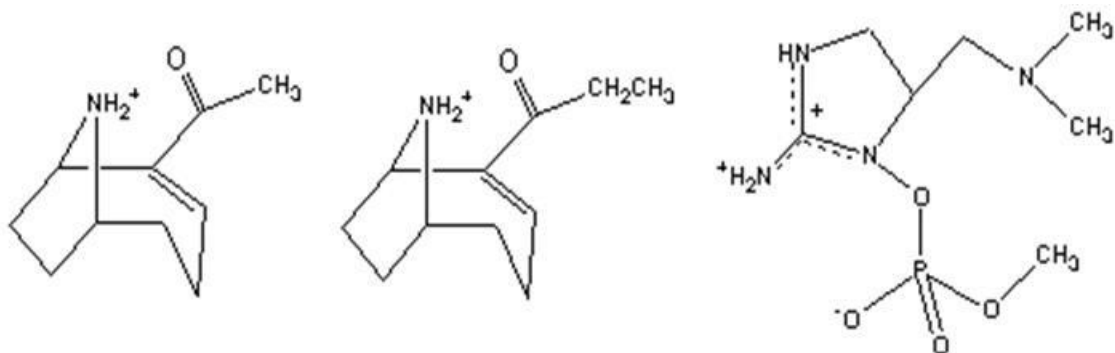
Slika 3 Struktura cijanotoksina cilindrospermopsina (Chorus i Bartram, 1999)

b) NEUROTOKSINI - anatoksini i saksitoksini

Veliki broj rodova cijanobakterija karakteriše produkcija neurotoksina od kojih su najčešći anatoksini (anatoksin-a, homoanatoksin-a i anatoksin-a (S)) i saksitoksini. Neurotoksini se još nazivaju i brzo delujući toksini jer se letalni efekat može ispoljiti već za nekoliko minuta odnosno sati. Najčešći producenti u slatkim vodama pripadaju rodovima *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*, *Oscillatoria (Planktothrix)* i *Lyngbya*. Anatoksin-a prvi put je izolovan iz vrste *Anabaena flos-aquae*. Međutim i mnoge druge vrste poput *A. planktonica*, vrsta rodova *Oscillatoria* i *Cylindrospermum* ga takođe mogu proizvoditi. Anatoksin-a i homoanatoksin-a su strukturno slični nikotinskim (holinergičnim) agonistima (Slika 4a i b) koji se vezuju za neuronske, nikotinske acetilholinske receptore. Kao moćni postsinaptički depolarizirajući agensi deluju na neuromuskulatornu vezu, otporni su na delovanje acetilholinesteraze i dovode do toga da su mišićne ćelije stalno stimulisane (efekat sličan dejstvu acetilholina na odgovarajuće receptore) izazivajući vrtoglavicu, teturanje, otežano disanje, paralizu grudnih mišića, konvulziju i smrt. Anatoksin-a(S) je fosfatni estar cikličnog N-hidroksiguanina (Slika 4c) i ima sličan način delovanja kao i sintetički organofosfatni insekticidi poput parationa i melationa. Ovaj toksin ireverzibilno inhibiše enzim acetilholinesterazu i smatra se da je 10 puta potentniji u odnosu na anatoksin-a. Kod životinja izaziva hipersalivaciju, tremor, neartikulisanošću mišića, dijareju, cijanozis (modar jezik i usta) i smrt. Letalna doza LD50 za čist anatoksin-a primenjen intraperitonealno je

9. Eutrofizacija

približno 200 •gkg-1 telesne mase miševa, dok je oralna letalna doza LD50 anatoksina sonifikovane ćelijske suspenzije koja sadrži *Anabaena* ćelije od 100 do 1000 puta veća.



a) anatoxin-a

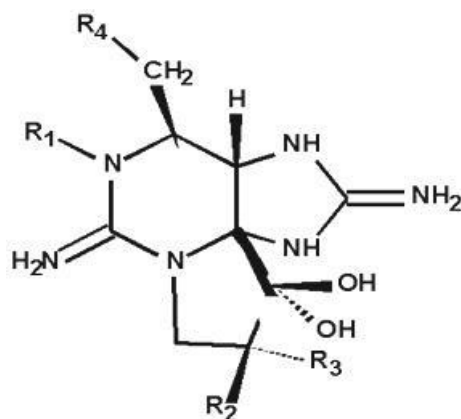
b) homoanatoxin-a

c) anatoxin-a (S)

Slika 4 Strukture anatoksina (Chorus i Bartram, 1999)

Saksitoksini predstavljaju grupu karbamidnih alkaloida (Slika 5) koji selektivno blokiraju voltažno-zavisne natrijumove kanale zaustavljajući propagaciju impulsa između neurona. To dovodi do paralize mišićnih ćelija koje ostaju na taj način bez stimulacije. Saksitoksini pripadaju grupi toksina poznatih pod imenom paralizirajući toksini ljuskara (Paralytic Shellfish Poisoning Toxins - PST). Često se javljaju u marinskim sredinama gde se akumuliraju u školjkama izazivajući paralitički efekat nakon konzumiranja. Pojava PST toksina predstavlja globalni problem i smatra se da obuhvataju familiju od 26 različitih toksina specifične biološke aktivnosti. Producenti ove grupe toksina nalaze se u okviru rodova *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Cylindrospermopsis*. Nervi su naročito osetljivi prema toj grupi toksina, i u ranim stadijumima trovanja, žrtve osećaju peckanje i ukočenost usta, jezika, lica i ekstremiteta, otežan govor. Mučnina, povraćanje i otežano gutanje, mogu se javiti kao prateći simptomi. U nekim slučajevima pacijent će pokazati progresivnu neurološku disfunkciju kao što su nepokretnost, slabost, vrtoglavica, osećaj oduzetosti praćen kompletnom paralizom. Dijafragma može prestati sa radom i smrt nastupa nakon otkazivanja kardio-respiratornog sistema. Takvi efekti su posledica toga što toksini blokiraju ulazak natrijumovih jona u nervne ćelije (preko proteina ćelijske membrane koji omogućuje ulazak natrijuma tokom akcionog potencijala, tzv. natrijumov kanal) čineći ih nesposobnih za generisanje akcionog potencijala. Saksitoksini, kao veoma toksični, izazivaju smrt kod morskih ježeva pri koncentraciji od samo 5 •gkg-1 kada se injektiraju intra-muskulotorno i pri istoj dozi kada se injektiraju intra-peritonealno kod miševa.

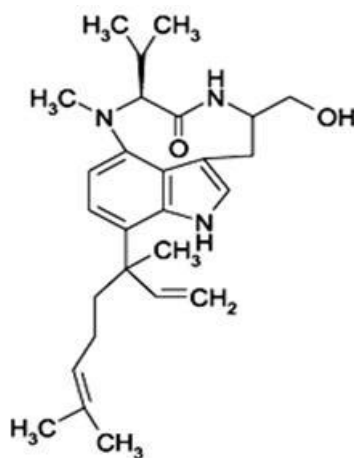
9. Eutrofizacija



Slika 5 Strukturna osnova saksitoksina (Chorus i Bartram, 1999)

.c) DERMATOTOKSINI - aplaziatoksini i lingbiatoksin

Različite vrste cijanobakterijskih rodova kao što su *Lyngbya*, *Oscillatoria* i *Schizothrix* mogu biti značajni producenti dermatotoksina koji izazivaju različite iritacije, alergijske i druge promene na koži i unutrašnjim organima. Pojedine vrste roda *Lyngbya* su naročito poznate po produkciji aplaziotoksina i debromoaplaziotoksina, jedinjenja koja su aktivatori enzima proteinkinaza i inicijatori tumora.



Slika 6 Struktura toksina lingbiatoksin a (Chorus i Bartram, 1999)

Pokazano je da vrsta *Lyngbya majuscula* producent lingbiatoksina (Slika 6), izaziva dermatitis, deskvamaciju i jaku oralnu i gastrointestinalnu upalu. Ovi toksini predstavljaju posebnu opasnost u vodama za rekreaciju.

d) LIPOPOLISAHARIDNI ENDOTOKSINI (LPS) - iritirajući toksini

Prvi lipopolisaharidni endotoksin izolovan je iz vrste *Anacystis nidulans* sedamdesetih godina prošlog veka. Lipopolisaharidi su generalno prisutni u spoljašnjoj membrani Gram negativnih bakterija, uključujući i cijanobakterije, gde formiraju komplekse sa proteinima i fosfolipidima i ispoljavaju toksičan efekat u smislu iritacije kože i očiju, alergijske reakcije

9. Eutrofizacija

tkiva, gastroenteritisa, inflamatornih problema, groznice. Lipopolisaharidi cijanobakterija su termostabilni i sadrže O antigene. Osim toga ovi toksini mogu delovati i kao promotori tumora.

Svetska zdravstvena organizacija je na osnovu studija na miševima dala pregled akutne toksičnosti za glavne vrste cijanotoksina koji se javljaju u površinskim vodama (Tabela 3).

Tabela 38 Cijanotoksini i njihova akutna toksičnost (WHO, 1998)

Cijanotoksin	LD ₅₀ čistog toksina
Hepatotoksini	
Mikrocistin-LR	60 (25-125) µgkg ⁻¹
Mikrocistin-YR	70 µgkg ⁻¹
Mikrocistin-RR	300-600 µgkg ⁻¹
Nodularin	30-50 µgkg ⁻¹
Neurotoksini	
Anatoksin-a (alkaloid)	250 µgkg ⁻¹
Anatoksin-a (organofosfat)	40 µgkg ⁻¹
Saksitoksini	10-30 µgkg ⁻¹
Citotoksini	
Cilindrospermopsin	200 µgkg ⁻¹ nakon 5-6 dana

9.7. Metode detekcija cijanotoksina

U cilju smanjivanja rizika od ekspozicije cijanobakterijskim toksinima, naučnici su razvili veliki broj senzitivnih i pouzdanih metoda pogodnih za detekciju različitih grupa cijanotoksina u različitim tipovima uzoraka. Brojne metode za detekciju i kvantifikaciju toksina rangirane su od bioloških skrining metoda do veoma sofisticiranih analitičkih tehnika. S obzirom na to da postoji veliki broj vrsta producenata različitih cijanotoksina važno je naglasiti da ne postoji univerzalna metoda za detekciju svih vrsta odnosno grupa poznatih cijanotoksina. Zbog toga je za odabir adekvatne metode detekcije potrebno prethodno utvrditi kvalitativni i kvantitativni sastav fitoplanktona u uzorku, tačnije ustanoviti zastupljenost cijanobakterijskih predstavnika (potencijalno toksičnih).

9. Eutrofizacija

Dodatni problem predstavlja to što prirodni uzorci najčešće nisu monobakterijski i monotoksični uzorci, već mešavina cijanobakterijskih vrsta, njihovih toksina i drugih supstanci koje nisu poreklom od cijanobakterija, što može bitno uticati na dobijene rezultate detekcije.

Osnovne analitičke metode za detekciju cijanotoksina podeljene su u dve velike kategorije. Kategorija opštijih metoda (tzv. "lumper" tehnike) namenjena je detekciji grupa toksina, dok je kategorija specijalizovanih metoda (tzv. "splitter" tehnike) namenjena detekciji pojedinačnih tipova toksina.

Za detekciju cijanotoksina u uzorku može se primeniti adekvatan bioesej metod kao što su biotestovi sa miševima, račićima (*Artemia salina*, dafnijama), bioesej sa bakterijama, ćelijama sisara i dr. Dugi niz godina je biotest na miševima bio jedini metod korišćen za detekciju toksičnosti. Iako ovaj biotest uključuje merenje ukupne toksičnosti (odgovor organizma) u roku od par sati, generalno nije dovoljno senzitivan niti specifičan. Mužjaci Swiss Albino miša su najčešće korišćene životinje za testiranje toksičnosti cijanotoksina. Toksičnost se u tom slučaju izražava preko vrednosti LD50 (poluletalna doza), a odnosi se na suhu masu uzorka cijanobakterija po kilogramu telesne mase miševa. Ovaj tip biotesta može biti primenjen kako za hepatotoksine tako i za neurotoksine. Glavna prednost biotesta sa miševima je što životinja obezbeđuje prirodne fiziološke i biohemijske funkcije za procenu toksičnosti uzorka. Etički problemi u primeni usloveli su uvođenje drugih bioeseja kao što je esej sa larvama račića *Artemia salina*.

Bioesej sa vrstama *A. salina* i *Daphnia magna* omogućuje razlikovanje netoksičnih uzoraka od hepatotoksičnih i neurotoksičnih. Hepatotoksini izazivaju letalan efekat na larve dok neurotoksini uzrokuju atipične pokrete koji se lako mogu uočiti posmatranjem pod lupom. U slučaju i ovog bioeseja toksičnost uzoraka se iskazuje preko LD50 i/ili LD100 vrednosti. Danas postoje standardizovani test kitovi koji sadrže jaja *A. salina* koja se mogu čuvati više godina na -20°C bez gubitka vijabilnosti.

Pored beskičmenjaka u testiranju toksičnosti vodenih uzoraka može se primeniti i vrsta *Danio rerio* (zebrica) kao izuzetno pogodan kičmenjački model, koji omogućuje praćenje toksičnosti na nivou embriona.

Bakterijski bioesej kao što je Microtox esej bioluminescencije našao je takođe primenu u detekciji cijanotoksina. Ovaj esej podrazumeva korišćenje bakterije *Photobacterium phosphoreum*, a toksičnost se određuje redukcijom svetla koju emituje test bakterija. Početna istraživanja su sugerisala da bi ovo mogao biti brzi metod za detekciju mikrocistina u uzorcima cijanobakterijskog cvetanja, dok su kasnije dodatne analize pokazale da esej daje pozitivan odgovor i na nepoznate komponente cijanobakterijskih ekstrakata pored toga što daje odgovor na mikrocistine. Postoje indicije da je korelacija između odgovora Microtox eseja i ćelijskog sastava poznatih cijanotoksina nedovoljna za širu primenu eseja.

9. Eutrofizacija

Drugi bakterijski bioesej koristi inhibiciju formiranja pigmenta prodigiozina u bakteriji *Serratia marcescens* kao indikator toksičnosti. Primenjivan je za saksitoksine i mikrocistine, ali je kao i u slučaju Microtox sistem, nađena slaba korelacija između stvarnog sastava poznatih cijanotoksina i inhibicije formiranja pigmenata.

Biohemijski esej poput inhibicije enzima protein fosfataza (PP1 i PP2A) je veoma osetljiv skrining metod koji se preporučuje za detekciju biohemijske aktivnosti mikrocistina i nodularina (hepatotoksina) u vodi. Ovaj metod je veoma pogodan s obzirom da je osetljivost reda veličine sub-nanograma cijanotoksina i predstavlja veoma brzu metodu za analizu većeg broja uzoraka. Metoda je primenljiva za sve vrste vodenih uzoraka uključujući i vodu za piće, zbog čega se često koristi u istraživanjima i monitoringu prevashodno toksina mikrocistina. An i Carmichael (1994) su prvi primenili kolorimetrijski metod inhibicije protein fosfataza sa osetljivošću od 0,25-2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, u kojem se kao supstrat koristi para-nitrofenil fosfat, čime je omogućena jednostavnija detekcija mikrocistina u vodenim uzorcima. Osim kolorimetrijski, mikrocistine je moguće detektovati i radiometrijski i fotometrijski sa većom osetljivošću od 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Mehanizam detekcije se u tom slučaju bazira se na kvantifikaciji ^{32}P oslobođenog iz radioaktivno obeleženog supstrata. Metod inhibicije protein fosfataza se obično primenjuje u determinaciji prisutnih hepatotoksina u uzorcima pre detaljnije identifikacije primenom posebnih analitičkih tehnika. Problem u primeni ovog eseja može da bude to što sve varijante mikrocistina sa protein fosfatazom reaguju na isti način, a osim toga fosfataze su osetljive i na druge inhibitore kao što su okadeinska kiselina, tautomycin i kalikulin.

Biohemijska aktivnost neurotoksina kao što su anatoksini može se odrediti primenom metode, odnosno eseja inhibicije enzima acetilholinesteraze (ACHA) koji predstavlja veoma osetljiv metod. Međutim ovaj metod nije dovoljno selektivan jer se pomoću njega mogu detektovati i neke druge grupe toksina prisutne u vodi, npr. organofosfatni pesticidi.

ELISA test imunoesej (eng. enzyme linked immunosorbent assay) je metod koji je veoma pogodan za brz skrining uzoraka na prisustvo mikrocistina, pri čemu je osetljivost metode reda veličine 1 ng ml⁻¹. S obzirom da se svi imunoeseji zasnivaju na specifičnom vezivanju antitela i antigena, detekcija cijanotoksina podrazumeva primenu poliklonalnih i monoklonalnih antitela specifičnih za određene cijanotoksine (najčešće za mikrocistine i neurotoksine). Prvi korak u postavljanju eseja uključuje vezivanje kalibratora, negativne kontrole i uzoraka za antitela u mikrotitar ploči. Dalje se dodaje konjugat mikrocistin-enzim koji se vezuje za preostala antitela, čime se omogućava detekcija preko specifičnog supstrata. Nakon ispiranja se uklanjaju nespecifično vezana antitela i vrši se merenje koncentracije vezanog enzima. Na antigene i antitela se mogu konjugovati selektivni enzimi, pri čemu konjugati mogu biti stabilni duži vremenski period. U tu svrhu se obično primenjuju enzimi poput alkalne fosfataze, α -D galaktozidaza i peroksidaza iz rena (HRP). Do sada je proizvedeno šest monoklonalnih antitela za mikrocistin-LR, različite

9. Eutrofizacija

reaktivnosti. ELISA kompleti za detekciju cijanotoksina dostupni su komercijalno, pri čemu su antitela fiksirana za zidove mikrotitar ploče, a kolorimetrijski se meri koncentracija vezanog enzima, pri čemu je koncentracija toksina obrnuto proporcionalna intenzitetu boje. ELISA metod se uspešno primenjuje za kvantifikaciju hepatotoksina u prirodnim uzorcima i kod laboratorijski gajenih cijanobakterija i predstavlja veoma pogodnu metodu za rutinske analize prisustva toksina.

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu cijanobakterijskih toksina koriste se i hemijske metode. Zbog najčešće malih koncentracija ovih cijanotoksina, složenosti materijala koji se analizira, neophodno je izdvajanje (ekstrakcija) toksina iz biološkog materijala, a zatim i njegovo prečišćavanje. Nekoliko analitičkih metoda razvijeno je za detekciju mikrocistina, anatoksina, cilindrospermopsina, pri čemu se sve metode detekcije mikrocistina mogu primeniti za detekciju nodularina. Fizičko-hemijske metode, poput tečne hromatografije visokih performansi (HPLC), tankoslojne hromatografije (TLC), kapilarne elektroforeze (CE) i gasne hromatografije (GC) se mogu primeniti za detekciju ali i za izdvajanje i identifikaciju pojedinačnih cijanotoksina. Kombinovanje HPLC ili CE sa metodom masene spektrofotometrije (MS) predstavlja veoma efikasan način analize i identifikacije cijanotoksina. Adekvatan analitički metod za skrining anatoksina, mikrocistina i nodularina predstavlja i tankoslojna hromatografija. Međutim sve navedene metode su našle primenu pre svega u kvalitativnoj analizi cijanotoksina, dok se kvantitativna analiza odlikuju manjom osetljivošću u odnosu na PP esej i na ELISA test. Hemijske metode odlikuje hemijska specifičnost i njihovom primenom se ne mogu odrediti toksični efekti analiziranog uzorka. Osim toga navedene metode zahtevaju osim adekvatne opreme i stručnog kadra, posebnu i čestu vrlo zahtevnu pripremu uzoraka, što praktično usporava i otežava ceo proces detekcije cijanotoksina.

Za detekciju toksičnosti primenjuju se i bioeseji sa različitim ćelijskim linijama. U te svrhe se koriste in vitro testovi na humanim ćelijskim linijama. Testovima se dobijaju dozno zavisne krive sa pretpostavljenim in vivo dozama i na osnovu ovih podataka se može predvideti in vivo efekat ispitivanog jedinjenja.

Poslednjih nekoliko godina više novih tehnologija je ispitano u cilju unapređenja detekcije i identifikacije cijanotoksina u biološkim uzorcima i uzorcima iz prirodne sredine. Visoko specifični molekuli, kao što su antitela i molekularno označeni polimeri (MIP), iskorišćeni su u pre-koncentraciji mikrocistina koji su u tragovima prisutni u vodi i pri tom su dobijeni zadovoljavajući rezultati. Nove biosenzorne tehnologije sa dodatnom senzitivnošću i specifičnošću su takođe postale raspoložive u ostvarivanju brzog in situ skrininga bez obrađivanja uzorka.

Takođe se u novije vreme razvijaju savremenije molekularne metode za detekciju toksigenosti sojeva odnosno potencijala za produkciju cijanotoksina. Jedna od takvih je i metoda lančane reakcije polimeraza (PCR) koja predstavlja vrlo moćno oruđe u detekciji

9. Eutrofizacija

npr. mikrocistina. PCR omogućava korišćenje specifičnih proba za koje je target microcistin (mcy) operon, u cilju utvrđivanja da li su biosintetski geni za mikrocistine prisutni u uzorku. Korišćenjem genomske DNK ekstrahovane iz uzorka, moguće je utvrditi da li postoji potencijal za produkciju ovih toksina. S druge strane, korišćenjem ekstrahovane RNK (rPCR) moguće je u određenim slučajevima odrediti da li je potencijal ispoljen u vidu sintetisanog produkta. Potencijal ne znači obavezno i produkciju toksina, tako da ovakav prilaz omogućava bolje razumevanje regulatornih mehanizama sinteze mikrocistina. U primeni ovakvih tehnika važna je činjenica da je mcy operon različit kod različitih toksičnih vrsta, što pruža mogućnost identifikacije koja je cijanobakterija u pomešanoj populaciji producent toksina.

9.8. Kontrola cvetanja mikroalgi u površinskim vodama

Monitoring pojave opasnog cijanobakterijskog cvetanja podrazumevao bi preduzimanje nekoliko osnovnih koraka, odnosno praćenje validnih parametara kao što su:

1. vizuelna inspekcija i utvrđivanje učestalosti pojavljivanja cijanobakterijskog masovnog razvoja u vodenim ekosistemima (incidence cvetanja u prostoru i vremenu);
2. utvrđivanje ključnih faktora koji dovode do pojave cvetanja i određivanje intervala praćenja;
3. utvrđivanje kvalitativnog sastava cijanobakterija (udeo toksičnih vrsta tj. sojeva);
4. određivanje % toksičnih cvetanja;
5. detekcija tipova i koncentracija cijanotoksina, ali kao obavezan parametar pratiti sadržaj mikrocistina u vodi;
6. izvršiti procenu zdravstvenog i ekološkog rizika, naročito voda namenjenih za vodosnabdevanje i rekreaciju;
7. uvesti i zakonom regulisati maksimalno dozvoljene koncentracije toksina po preporukama Svetske zdravstvene organizacije;
8. odrediti moguće mere prevencije i/ili sanacije ugroženih vodenih ekosistema.

Povećan zdravstveni rizik kada su slatkovodni ekosistemi u pitanju je posebno izražen kada se radi o vodi namenjenoj za vodosnabdevanje i rekreaciju. U tom slučaju rizik može biti smanjen na nekoliko načina:

1. prevencijom cvetanja u vodenim ekosistemima;
2. uklanjanjem ćelija cijanobakterija, odnosno biomase;
3. ili uklanjanjem cijanotoksina tokom tretmana pripreme vode za piće.

9. Eutrofizacija

Prevenција pojave i kontrola pojave masovnog razvoja cijanobakterija je najefikasniji način sprečavanja kontaminacije vode cijanotoksinima i posebno je značajna kada su u pitanju površinske vode namenjene za vodosnabdevanje (akumulacije, rezervoari, reke i sl.).

Prema Chorus i Bartram (1999) prevenција i moguća sanacija procesa eutrofizacije i cvetanja cijanobakterija u akvatičnim sredinama svodi se na nekoliko važnih koraka:

1. adekvatno prečišćavanje otpadnih voda;
2. kontrolisana upotreba fertilizatora u poljoprivredi;
3. smanjenje spiranja vode sa poljoprivrednih površina;
4. zaštita od erozije;
5. zaštita vodoizvorišta i primena adekvatnih tretmana u pripremi vode za piće;
6. drenaža sedimenta i vezivanje fosfora;
7. promene hidrofizičkih karakteristika i pojačavanje protoka vode;
8. biomanipulacija;
9. upotreba algicida.

Kontrolu prenamnožavanja cijanobakterija i mikroalgi u vodenim sredinama moguće je sprovesti primenom sledećih metoda: fizičke (aeracija, hidrološka manipulacija, mehaničko mešanje, isušivanje, uklanjanje površinske biomase, ultrasonikacija), hemijske (primena algicida, koagulacija, flokulacija) i biološke (biokontrola virusima, bakterijama, račićima i sl.).

U kontroli unosa nutrijenata u određeni vodeni ekosistem, mora se uzeti u obzir tip podloge, potencijal oticanja vode i prisutan vegetacijski pokrivač. U regionima sa erozivnim zemljištem, bogatim nutrijentima i redukovanim vegetacijskim pokrivačem ili prisutnom prirodnom eutrofizacijom (npr. delte reka), redukcija unosa nutrijenata neće biti moguća u istoj meri kao u onim regionima gde je podloga peskovita, reljef ravan i gde postoji gust pokrivač od drveća. Takođe primenjene mere i ulaganja u redukciju unosa nutrijenata biće uspešnije i imaće mnogo veći efekat u smanjenju eutrofizacije ukoliko se radi o potencijalno oligotrofnom vodenom ekosistemu, nego u slučaju prirodno eutrofnih voda.

Mnoge fabrike voda u postupku pripreme sirove vode primenjuju supstance poput bakar-sulfata i komplekse bakra (npr. bakar-citrat, bakar-enolat) za kontrolu cvetanja cijanobakterija u rezervoarima i akumulacijama koje služe za vodosnabdevanje. U tom slučaju zahteva se posebna opreznost, jer tretman može biti primenjen samo pre pojave cvetanja cijanobakterija, a nikako tokom cvetanja. Razlog je u tome što tretman može dovesti do liziranja ćelija cijanobakterija i oslobađanja toksina, čime se drastično povećava koncentraciju toksina rastvorenog u vodi.

9. Eutrofizacija

Intaktne cijanobakterijske ćelije koje dospevaju mogu biti u velikom broju fizički uklonjene koagulacijom, flokulacijom, sedimentacijom, filtracijom, međutim ukoliko je dodat oksidant, one bivaju lizirane što dovodi do oslobađanja toksina. Važno je reći da rastvoren toksin ne može biti uklonjen pomenutim fizičkim metodama. Svi cijanotoksini su rastvorljivi u vodi, pa prema tome mere remedijacije moraju uključiti hemijske procese (npr. ozonizacija) u redukciji toksičnosti ili potpunom uklanjanju toksina iz vode namenjene za vodosnabdevanje.

Biokontrola predstavlja kratkoročnu strategiju eliminacije ili redukcije rasta cijanobakterija, primenom mikroorganizama (agensi biološke kontrole) koji deluju kao antagonisti cijanobakterija u vodenoj sredini. U najjednostavnijoj varijanti inokulum agensa biokontrole se unosi u površinsku vodu gde tek počinje da se razvija cijanobakterijsko cvetanje ili je ono već razvijeno u većem obimu. Uvođenje organizama koji su prirodni činiooci vodenih zajednica u sredinu, govori u prilog tome da se biološka kontrola može posmatrati kao promena u balansu u vodi egzistirajućih organizama. Jednom uneti u vodenu sredinu oni ograničavaju razvoj cijanobakterija, ali takođe postaju podložni čitavom nizu pritisaka životne sredine i njihova populacija ima tendenciju opadanja do određenog nivoa. Glavna prednost primene biološke kontrole nad hemijskom metodom se sastoji u tome što je u ovom slučaju moguća primena visoko specifičnog agensa koji targetira samo određenu grupu organizama kao što su npr. cijanobakterije, bez negativnog uticaja na druge vodene organizme.

Širok spektar vodenih mikroorganizama koji se koriste kao agensi biološke kontrole cijanobakterija su:

1. paraziti - cijanofagi i gljive
2. predatori – protozoe
3. kompetitivni antagonisti – bakterije, aktinomicete i gljive (produkuju različite enzime i bioaktivne agense koji negativno deluju na cijanobakterije).

Neki od primera mikroorganizama koji se mogu koristiti kao agensi biološke kontrole za cijanobakterija su predstavnici protozoa iz roda *Nuclearia*, vodenih račića iz roda *Daphnia* (koji se intenzivno hrane cijanobakterijama) i bakterije roda *Streptomyces* (produkuju lizozim koje veoma brzo dovodi do destrukcije filamentoznih i kolonijskih predstavnika cijanobakterija). Efikasnost pojedinih agenasa biokontrole je različita i zavisi pre svega od njihove ekološke uloge u ekosistemu. U tom smislu bi idealan agens biološke kontrole trebalo da poseduje sledeće karakteristike:

- široku specifičnost prema različitim cvetajućim cijanobakterijama
- efikasnost u slučaju obilnog algalnog cvetanja i mogućnost brzog povećanja unutar populacije cijanobakterija koja proliferira
- perzistentnost i dugotrajnu efikasnost

9. Eutrofizacija

- kultivabilnost u laboratorijskim uslovima u cilju produkcije velike količine inokuluma.

Protokol za primenu biološke kontrole u slučaju cijanobakterija podrazumeva nekoliko osnovnih faza: izolacija agensa iz prirodne sredine, laboratorijsko testiranje, terensko ispitivanje i primena u menadžmentu vodenog ekosistema.

U novije vreme se u cilju kontrole razvoja modro-zelenih algi u površinskim vodama koriste i druge metode poput unošenja biljnog materijala (ekomanipulacija), iznošenja biomase cijanobakterija posebnom vrstom uređaja i sl.

Literatura:

1. Guidelines for Safe Recreational-water Environments, 1998
2. Moss, 1988,
3. Rapala i sar. 1997
4. Fleming i sar, 2002
5. Sivonen i Jones, 1999;
6. Chorus, 2001, 2005)
7. (Falconer i sar. 1999)
8. (Chorus i Bartram, 1999)
9. (Reynolds, 1997)
9. (Bartram i sar., 1999)
11. (Zohary i Roberts, 1990).
12. WHO (1998)
13. (Lawton i sar., 1994;
14. Harada, 1996;
15. Meriluoto, 1997)
16. (Ojanpera i sar., 1991;
17. Pelander i sar., 1996)
18. Simeunović (2010)
19. (Rantala i sar., 2006).
20. (Nagata i sar., 1995)
21. (Sellner i sar., 2003)

9. Eutrofizacija

22. Rawson-ov (1956)
23. Neygard-ov (1949)
24. Stockner-ov A/C indeks (1972)
25. Reynolds (1990)
26. Wasmund (1997)
27. Cloern-u (1996)
28. Persson, 1996;
29. Izaguirre i Taylor, 2004;
30. Blaha i sar., 2004)
31. Zurawell i sar., 2005
32. (Carmichael, 1996)
33. (Hesse i sar., 2001).
34. Chorus i Fastner (2001)
35. Tett (1987)

10. MIKROORGANIZMI KAO INDIKATORI STANJA I KVALITETA POVRŠINSKIH VODA

Mikroorganizmi naseljavaju veliki broj mikrostaništa što im je tokom evolucije omogućilo da se prilagođavaju i tako opstaju pod veoma različitim uslovima sredine. Rezultat uzajamnog odnosa mikroorganizama i okoline je njihov veliki biološki i metabolički diverzitet. Oni su sveprisutni i u površinskim vodama gde učestvuju u svim biogeochemijskim ciklusima. Shodno tome svaki slatkovodni ekosistem karakteriše mikrobiološka zajednica sa specifičnim kvalitativnim i kvantitativnim sastavom.

Narušavanje uslova u vodenoj sredini uzrokuje promene koje se najpre mogu uočiti u mikrobiocenozi. Pojava bilo kakve organske materije (autohtone ili alohtone) predstavlja signal na koji mikroorganizmi veoma brzo reaguju. Najpre sintezom supstrat specifičnih enzima, a potom i porastom brojnosti onih fizioloških grupa koje razlažu raspoložive supstrate. Ovakvo ponašanje mikrobiološke zajednice ukazuje da brojnost pojedinih grupa mikroorganizama, njihova enzimaska aktivnost i zastupljenost karakterističnih gena može biti dobar pokazatelj stanja i kvaliteta površinskih voda.

Bakterije se kao dominantni heterotrofni mikroorganizmi mogu koristiti kao indikatori kvaliteta površinskih voda sa sanitarnog ili opšteg ekološkog aspekta

10.1. Bakterije kao indikatori kvaliteta površinskih voda sa sanitarnog aspekta

Uticaj čoveka na mikrobiološki kvalitet površinskih voda je značajan, a ljudske aktivnosti, poput urbanizacije i industrijalizacije, zajedno sa rastom populacije dramatično utiču na vodenu sredinu. Kontaminacija bakterijama fekalnog porekla je jedan od ključnih problema u pogledu kvaliteta površinskih voda na globalnom nivou.

Nivo nedavno nastalog fekalnog zagađenja površinskih voda se procenjuje određivanjem brojnosti indikatorskih grupa bakterija jer je detekcija pojedinih vrsta patogena još uvek veoma težak, dugotrajan i skup proces..

Rutinsko ispitivanje uzoraka životne sredine na prisustvo svih mogućih crevnih patogena bilo bi zamorno, teško i dugotrajno. Zato se u ovu svrhu koriste indikatorski mikroorganizmi, čije prisustvo ukazuje na to da patogeni mikroorganizmi takođe mogu biti prisutni u uzorku. Koncept indikatora fekalnog zagađenja zasniva se na činjenici da se

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

određene nepatogene bakterije javljaju u fecesu svih toplokrvnih životinja. Ove bakterije se često mogu izolovati i kvantifikovati jednostavnim bakteriološkim metodama, lakše od patogenih mikroorganizama. Prisustvo ovih bakterija u vodi može značiti da je došlo do fekalne kontaminacije i to sugeriše da bi mogli biti prisutni i enterični patogeni u uzorku.

Na primer, koliformne bakterije, koje se inače javljaju u crevima svih toplokrvnih životinja, izlučuju se u velikom broju sa fecesom. U zagađenoj vodi, koliformne bakterije se nalaze u približno proporcionalnom broju u zavisnosti od stepena fekalnog zagađenja. Koliformne bakterije su generalno otpornije od bakterija koje uzrokuju bolesti, a njihovo odsustvo iz vode je pokazatelj da je voda ili hrana bakteriološki bezbedna za ljude i životinje. Suprotno tome, prisustvo koliformne grupe bakterija je indikator da druge vrste mikroorganizama, izazivači bolesti, takođe mogu biti prisutni i da voda ili hrana nisu bezbedni za upotrebu.

Od 1914. godine, Služba javnog zdravlja SAD usvojila je koliformnu grupu kao pokazatelj fekalne kontaminacije vode za piće. Mnoge zemlje su usvojile koliforme i druge grupe bakterija kao zvanične standarde za pijaću vodu, vode za rekreaciju, otpadne vode i hranu. Indikatorski mikroorganizmi se takođe koriste za procenu efikasnosti prerade hrane i vode i procese prečišćavanja otpadnih voda. Idealni pokazatelj fekalne kontaminacije trebalo bi da ispunji kriterijume navedene u tabeli 1.

Tabela 39 Kriterijumi za idealni indikatorski organizam

- Organizam bi trebalo da bude primenljiv na sve tipove voda
- Mora da bude prisutan uvek kada su prisutni enterični patogeni
- Trebalo bi da duže preživljava u spoljašnjoj sredini od najotpornijih enteričnih patogena
- Ne sme da raste u vodi
- Metoda testiranja mora biti jednostavna
- Brojnost mora biti u korelaciji sa stepenom fekalnog zagađenja
- Organizam mora biti deo mikrobiota toplokrvnih životinja

Nažalost, nijedan indikator ne ispunjava sve ove kriterijume, pa su razne grupe mikroorganizama predložene i korišćene kao indikatorski organizmi. Koncentracije indikatorskih bakterija pronađene u otpadnim vodama i izmetu prikazane su u tabelama 2 i 3.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Tabela 40 Indikatorski organizmi u otpadnoj vodi

Indikatorski organizam	CFU/ 100 mL
Koliformi	10^7-10^9
Fekalni koliformi	10^6-10^7
Enterokoke	10^4-10^5
Escherichia coli	10^6-10^7
Clostridium perfringens	10^4
Staphylococcus (koagulaza pozitivan)	10^3
Pseudomonas aeruginosa	10^5
Acido-alkoholno rezistentne bakterije	10^2
Kolifagi	10^2-10^3
Bacteroides spp.	10^7-10^{10}

Tabela 41 Mikroorganizmi u animalnom fecesu

Grupa životinja	Brojnost po gramu fecesa		
	Fekalni koliformi	Fekalne streptokoke	C. perfringens
Goveda	230.000	1.300.000	200
Svinje	3.300.000	84.000.000	3980
Ovce	16.000.000	38.000.000	199.000
Konji	12.600	6.300.000	<1
Patke	33.000.000	54.000.000	-
Kokoške	1.300.000	3.400.000	250
Ćurke	290.000	2.800.000	-
Mačke	7.900.000	27.000.000	25.100.000
Psi	23.000.000	-	-

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Grupa životinja	Brojnost po gramu fecesa		
	Fekalni koliformi	Fekalne streptokoke	C. perfringens
Miševi	330.000	7.700.000	<1
Zečevi	20	47.000	<1
Čovek	13.000.000	3.000.000	1580

Indikatori se tradicionalno koriste da ukažu na prisustvo enteričnih patogena; međutim, danas prepoznajemo da retko postoji direktna korelacija između bakterija indikatora i humanih patogena. Kao takva, upotreba indikatora je bolje definisana pomoću njihove namene (tabela 4). Dakle, procesni indikatori koriste se za procenu efikasnosti tretmana (npr. tretman vode za piće), dok fekalni indikatori ukazuju na prisustvo fekalne kontaminacije. Indeks (ili model) organizam koristi se kao pokazatelj prisustva i ponašanja patogen u datoj sredini.

Tabela 42 Definicija i primeri indikatorskih mikroorganizama

Grupa	Definicija i primer
Procesni indikator	Grupa organizama koji ukazuje na efikasnost procesa, kao što je brojnost heterotrofni bakterija ili ukupni koliformi u tretmanu vode hlorom
Fekalni indikator	Organizmi koji ukazuju na prisustvo fekalne kontaminacije, kao što su fekalni koliformi i E. coli
Indeks i model organizam	Grupa organizama koja ukazuje na prisustvo i ponašanje patogena; npr. E. coli je indeks za Salmonella spp. ili kolifagi za humane enterične viruse

U indikatore fekalnog zagađenja spadaju: ukupni koliformi, fekalni koliformi, *E.coli*, i crevne enterokoke.

10.1.1. Ukupni koliformi

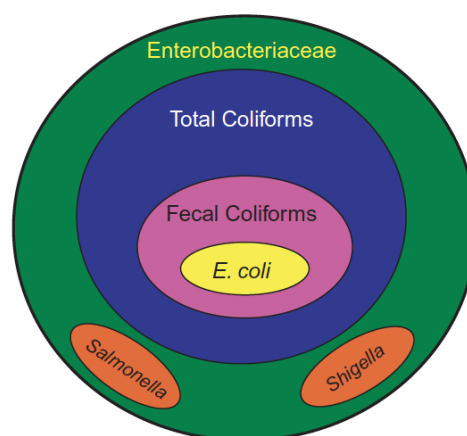
Ukupni koliformi pripadaju enterobakterijama (slika 1) i koriste se kao indikatorski organizmi. Koliformna grupa, koja uključuje *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* i *Klebsiella* je relativno jednostavna za detekciju. Konkretno, ova grupa uključuje sve aerobne i fakultativno anaerobne, gram negativne bakterije štapićastog oblika koje ne

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

stvaraju spore i proizvode gas nakon fermentacije laktoze u medijumu u roku od 48 sati na 35°C. Koliformna grupa je korišćena kao standard za procena fekalne kontaminacije rekreativne i pijaće vode skoro čitav vek. Kroz iskustvo se saznalo se da odsustvo ovih organizma u 100 ml vode za piće ukazuje na odsustvo fekalnog zagađenja, ali je takođe utvrđeno da ovaj parametar ima nedostatke.

Svi članovi koliformne grupe mogu da rastu u prirodnoj sredini i vodi za piće distributivnog sistema. Stopa opadanja brojnosti koliformnih bakterija zavisi od količine i vrste organske materije u vodi i njene temperature. Ako voda sadrži značajne koncentracije organskih materija i nalazi se na povišenoj temperaturi, broj ovih bakterija može da poraste. Ovaj fenomen je primećen u eutrofnim tropskim vodama, vodama u koje dospeva celuloza i vode iz fabrike papira, otpadne vode, vodeni sedimenti i organski obogaćeno zemljište nakon perioda obilnih padavina. Najviše zabrinjava oporavk oštećenih koliformnih bakterija u sistemu za distribuciju vode za piće, jer to može dati lažnu indikaciju fekalne kontaminacije. Koliformi mogu da kolonizuju i rastu u biofilmovima koji se nalaze u cevima distributivnog sistema, čak i u prisustvu slobodnog hlora. *Escherichia coli* je 2400 puta otpornija na slobodni hlor kada je pričvršćena za površinu nego kada je prisutna u planktonskom obliku.

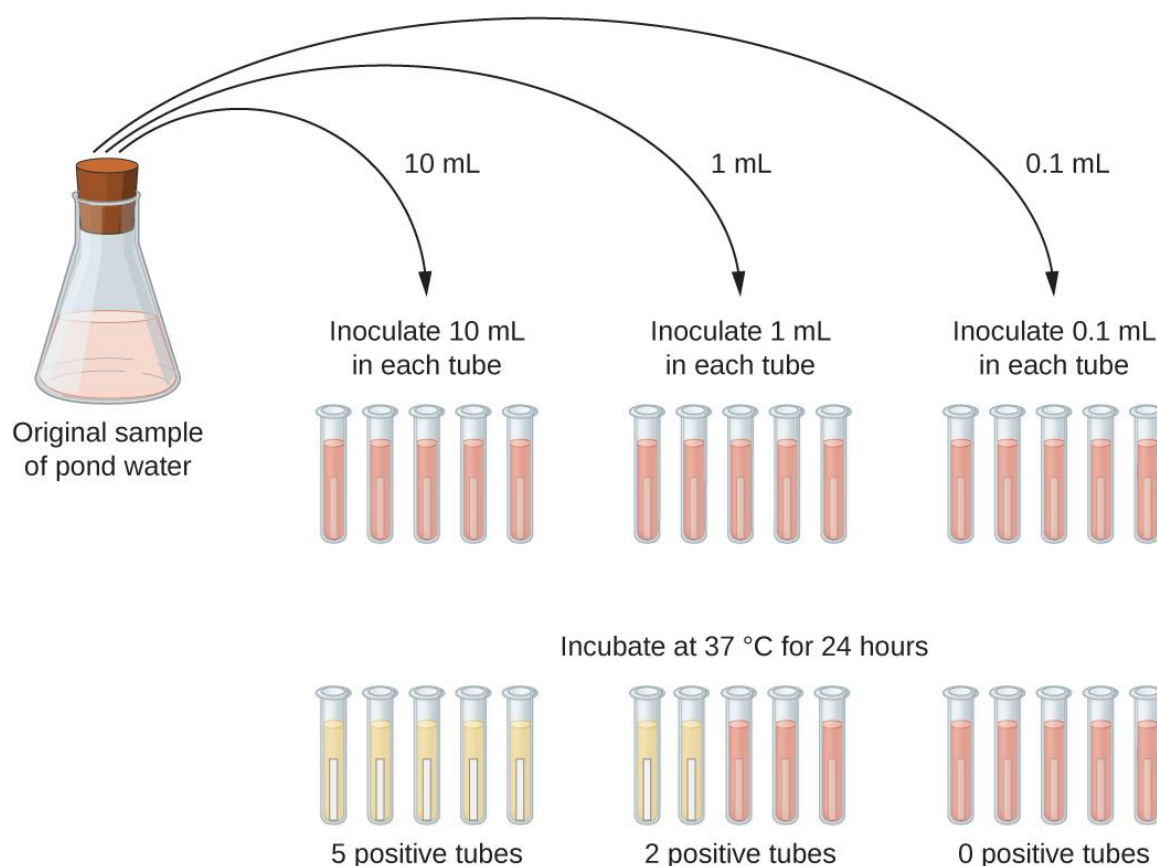
Budući da je veliki broj heterotrofnih bakterija u vodi može prikriti rast koliformnih bakterija na selektivnim podlogama koje se koriste za njihovu izolaciju, tačan broj koliforma može biti potcenjen. Ovo često postaje problem kada broj aerobnih heterotrofnih bakterija prelazi 500 CFU/mL. Konačno, duže vreme preživljavanja i veća otpornost na dezinficijense patogenih enteričkih virusa i protozoa ograničavaju upotrebu koliformnih bakterija kao indikator za ove organizme. Međutim koliformna grupa bakterija dokazala je svoju upotrebu u opštoj proceni bakteriološkog kvaliteta vode. Tri metode se obično koriste za identifikaciju koliformnih vrsta u vodi: najverovatniji broj (MPN), membranska filtracija (MF) i testovi za odsustvo/prisustvo (P/A).



Slika 1. Veza između enterobakterija, ukupnih i fekalnih koliforma i *E. coli*

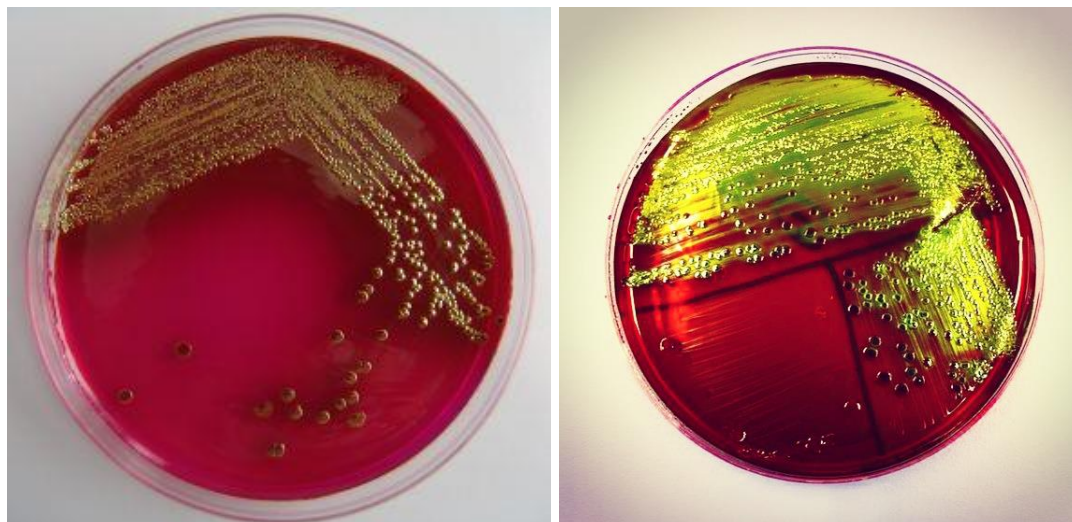
10.1.1.1. MPN

Ovaj test omogućava otkrivanje prisustva koliformnih bakterija u uzorku i proceni njihovog broja. Test se vrši u tri koraka: prethodni test, potvrdni test i završni test. U prethodnom testu, lauril sulfat-triptozalaktozni bujon stavlja se u set epruveta sa različitim razblaženjima vode koja se ispituje. Obično se priprema tri do pet epruveta (ponavljanja) po razblaženju (slika 2). Ove epruvete se inkubiraju na 35 ° C tokom 24 do 48 sati, i naknadno ispituju na prisustvo koliforma, na šta ukazuje proizvodnja gasa i kiseline. Kada se pozitivne epruvete identifikuju i zabeleže, moguće je proceniti ukupni broj koliformnih vrsta u originalnom uzorku pomoću MPN tabele koja daje brojeve koliformnih bakterija u odgovarajućoj zapremini. U potvrdnom testu, prisustvo koliforma se potvrđuje inokulisanjem selektivnih bakterioloških podloga kao što su Eozin metilen plavi (EMB) agar ili Endo agar, sa malom količinom kulture iz pozitivnih epruveta. Bakterije koje fermentišu laktozu stvaraju kolonije sa zelenim metalik sjajem ili kolonija sa tamnim centrom (slika 3). U završnom testu se kolonije inokulišu nazad u lauril sulfat triptozalaktozni bujon, za demonstraciju proizvodnje kiseline i gasa.



Slika 2. Izvođenje MPN metode; inokulacija različitih razređenja/zapremina uzoraka u ponavljanjima (5 ponavljanja na slici). Nakon inkubacije prati se prosvetlost i gasa pomoću Durhamovih cevčica.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda



Slika 3. *E. coli* na Endo agaru (levo) i Eozin metilen plavo podlozi (desno)

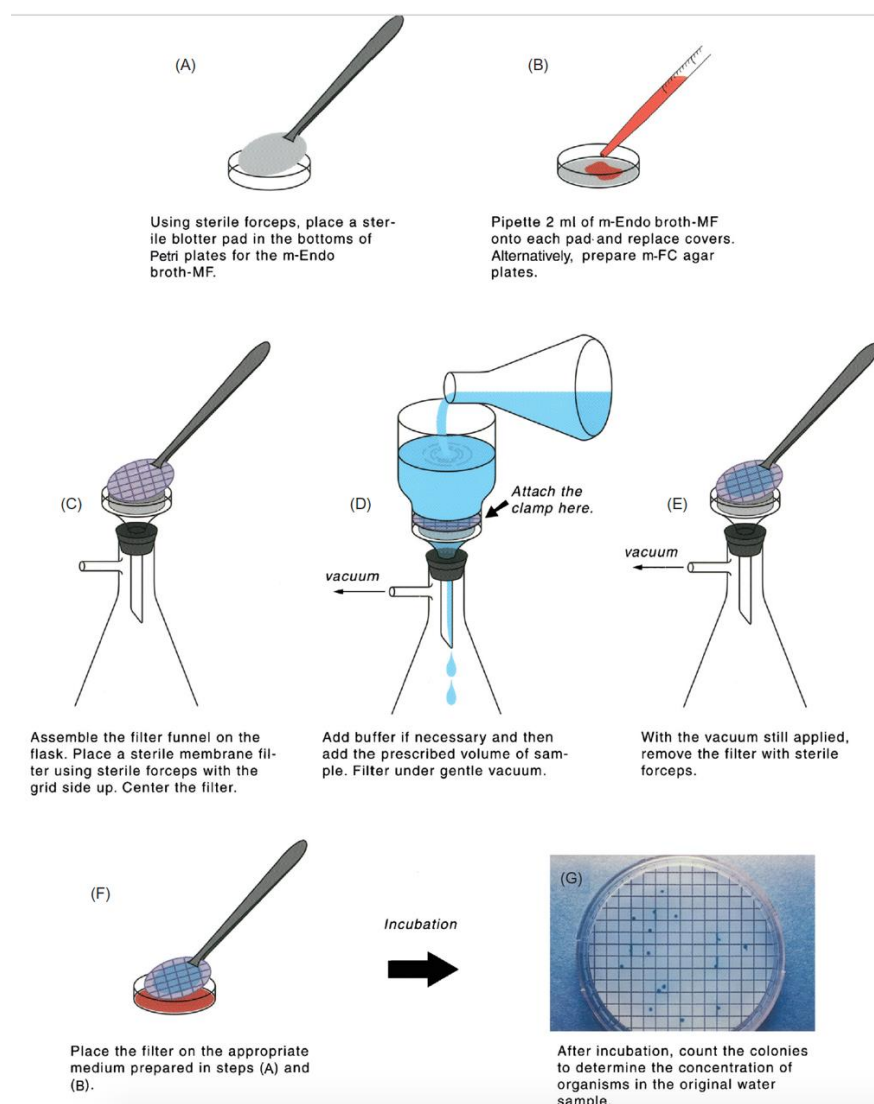
<https://microbiologylaboratoryturkey.blogspot.com/2018/11/endo-agar.html>

<https://www.gzinnoation.eu/project/10/ecolisens-long-period-grating-fibre-sensor-device-for-e-coli-detection>

10.1.1.2. Membranska filtracija

Membranska filtracija (MF) omogućava određivanje broja koliforma u uzorku, ali je lakša za izvođenje od MPN testa, jer zahteva manje materijala i manje rada (slika 4).

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda



Slika 4. Membranska filtracija uzorka

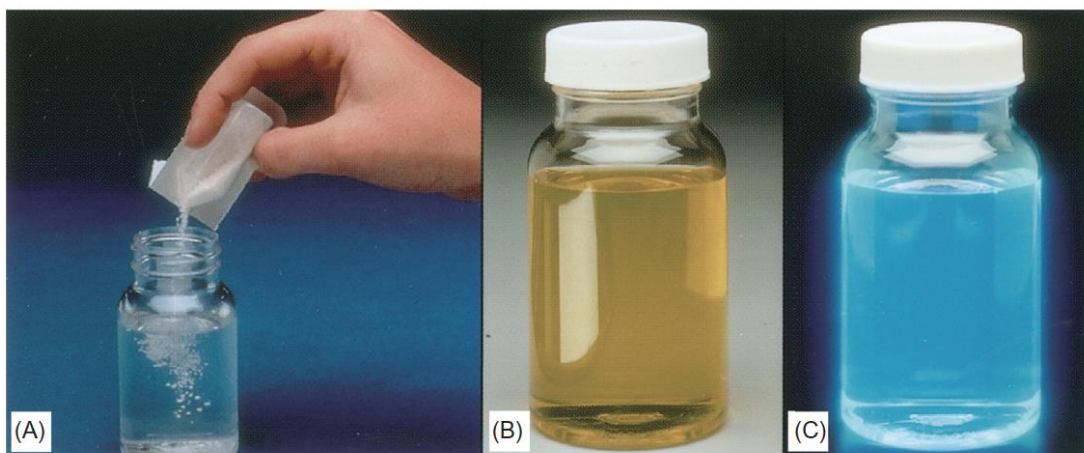
U ovoj tehnici se određena količina vode (obično 100 ml vode za piće) propušta kroz membranske nitrocelulozne filtere (veličina pora 0,45 μm) koji zadržava bakterije na površini. Membrana se zatim postavlja na hranjivu podlogu koja omogućava rast i diferencijaciju koliforma. Na primer, ako se određuje ukupna brpojnost koliforma koristi se Endo agar, a inkubacija traje 18-24h na 35°C. Uspeh metode zavisi od korišćenja efikasne diferencijalne ili selektivne podloge koja može da olakša identifikaciju bakterija koje rastu na površini membranskog filtera.

10.1.1.3. Test prisustva/odsustva (P/A)

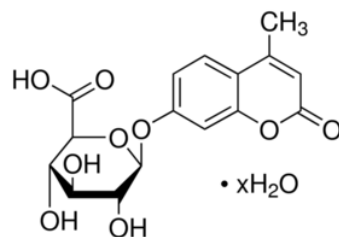
P/A test nije kvantitativni; umesto toga, on odgovara na pitanje da li je ciljani organizam prisutan u uzorku ili nije. Jedna epruveta sa lauril sulfat triptoza laktoza bujonom kao što se koristi u MPN testu, ali bez razblaživanja, koristi se u testu P/A. Poslednjih godina razvijeni su enzimski testovi koji omogućavaju istovremeno otkrivanje ukupnih koliformnih bakterija i *E. coli* u vodi za piće. Koliaert sistem je jedan takav test: zasnovan

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

je na činjenici da ukupne koliformne bakterije proizvode enzim b-galaktozidazu, koji hidrolizuje supstrat o-nitrofenil-beta-D-galaktopiranozid (ONPG) do žutog nitrofenola (slika 5). *E. coli* se može otkriti istovremeno uključivanjem fluorogenog supstrata, 4-metilumbelliferon glukuronida (MUG) (slika 6), koji daje fluorescentni produkt nakon interakcije sa enzimom beta-glukuronidazom kojeg produkuje *E. coli*, ali ne i drugi koliformi. Krajnji proizvod otkriva se ultraljubičastom (UV) lampom sa dugim talasima. Ovaj test se izvodi dodavanjem uzorka u jednu bocu (P/A test) ili MPN epruvete koje sadrže dehidratisanu podlogu sa specifičnim enzimskim supstratom koji služi kao jedini izvor ugljenika za organizme. Nakon 24 sata inkubacije, uzorci su pozitivni za ukupne koliforme ako požute, dok pozitivni uzorci na *E. coli* fluoresciraju (plava boja) pod dugim talasima UV svetla u mraku (slika 5).



Slika 5. Otkrivanje indikatorne bakterije sa Colilertom. (A) Dodavanje podloge sa supstratom za uzorak vode; (B) žuta boja koja označava prisustvo koliformnih bakterija; (C) fluorescencija pod dugim talasima ultraljubičastog svetla koje ukazuje prisustvo *E. coli*.



Slika 6. Struktura MUG supstrata

10.1.2. Fekalni koliformi i *E. coli*

Iako ukupni koliformni služe kao glavni pokazatelj zagađenja vode već dugi niz godina, nekoliko organizama iz ove grupe nisu ograničeni na fekalne izvore. Stoga su razvijene metode za detekciju koliforma koji su bolji indikatori. Ovi organizmi, koji uključuju rodove

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Escherichia i *Klebsiella*, u laboratoriji se razlikuju po sposobnosti fermentacije laktoze, proizvodnje kiseline i gasa na 44,5°C u roku od 24 sata. Generalno, ovaj test ukazuje na fekalno zagađenje, ali nije moguće razlikovati zagađenje humanog i animalnog porekla. Često pojava koliformnih i fekalnih koliformnih bakterija u nezagađenim tropskim vodama i njihova sposobnost da prežive znatan period u ovim vodama izvan creva, sugerišu da se ovi organizmi javljaju prirodno u tropskim vodama i za ove vode je potrebno razviti nove indikatore.

Predložena je upotreba *E. coli* kao indikatora, jer se lako može razlikovati od ostalih članova fekalne koliformne grupe (npr. odsustvo ureaza i prisustvo b-glukuronidaze) i veća je verovatnoća da ukaže na fekalno zagađenje. Fekalni koliformi takođe imaju neka ista ograničenja u upotrebi kao koliformne bakterije, tj. ponovo rastu u prirodnoj sredini i manje su otporni na tretman vode nego virusi i praživotinje.

Fekalni koliformi se mogu otkriti sličnim metodama koje se koriste za koliformne bakterije.

10.1.3. Fekalne streptokoke – *Enterococcus*

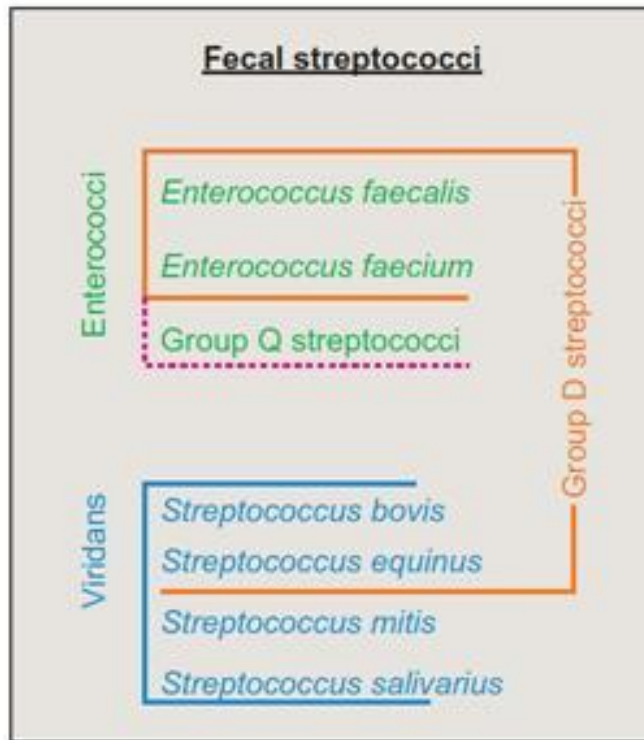
Ove bakterije su gram pozitivne i spadaju u D grupu prema Lancefield-ovoj klasifikaciji. Fekalnim streptokokama pripadaju rodovi *Enterococcus* i *Streptococcus* (slika 7). Rod *Enterococcus* uključuje sve streptokoke koje dele određena biohemijska svojstva i imaju širok spektar tolerancije na nepovoljne uslove sredine. Enterokoke se mogu naći u zemljištu, vodi, mlečnim proizvodima, hrani i na biljkama. Od ostalih streptokoka razlikuju se po sposobnosti rasta u 6,5% natrijum hlorida, pH 9,6 i na 45°C i uključuju *E. avium*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. faecalis* i *E. gallinarium*. U industriji vode, rod se često označava kao *Streptococcus*. Od roda *Streptococcus* samo *S. bovis* i *S. equinus* smatraju se pravim fekalnim streptokokom. Ove dve vrste *Streptococcus* se pretežno nalaze kod životinja. Za creva čoveka su specifičnije *E. faecalis* i *E. faecium*. Predloženo je da odnos fekalnih koliforma / fekalnih streptokoka (FC / FS) od 4 ili više ukazuje na kontaminaciju ljudskog porekla, dok odnos ispod 0,7 ukazuje na zagađenje životinja (tabela 5). Međutim, valjanost FC/FS je doveden u pitanje i utvrđeno je da samo važi za nedavno (24 sata) fekalno zagađenje.

Tabela 43 Detekcija porekla fekalne kontaminacije

Odnos FC/FS	Izvor kontaminacije
>4	Humano poreklo
2-4	Predomonantno humano poreklo

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

0.7-2	Predomonantno animalno poreklo
<0.7	Animalno poreklo



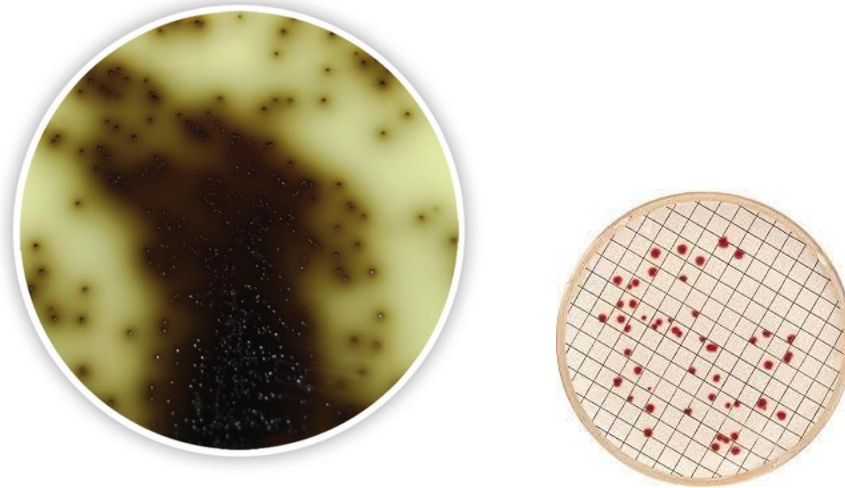
Slika 7. Definicija enterokoka, rupe streptokoka i fekalnih streptokoka

Metoda membranske filtracije i MPN metoda se takođe mogu koristiti za izolaciju fekalnih streptokoka. Metoda membranskog filtera koristi fekalni Streptococcus agar sa inkubacijom na 37 ° C tokom 24 sata. Sve crvene, kestenjaste i ružičaste kolonije (zbog transformacije 2,4,5-trifeniltetrazolijum hlorid [TTC] u formazan crvene boje) se računaju kao fekalne streptokoke (slika 8). Potvrda fekalnih streptokoka vrši se subkultivacijom na žučnom eskulin agaru sa inkubacijom 18 sati na 44°C. Fekalne streptokoke formiraju diskretne kolonije okružene smeđim ili crnim oreolom usled hidrolize eskulina. Smatra se da enterokoke imaju određene prednosti u odnosu na koliformne i fekalne koliformne bakterije kao indikatori:

- Retko rastu u vodi.
- Otpornije su na stres iz okoline i hlorisanje nego koliformne bakterije i
- Duže preživljavaju u spoljašnjoj sredini.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Brojnost enterokoka u površinskim vodama pokazala je povezanost sa rizikom od gastroenteritisa među kupaćima u rekreativnim vodama i postoje standardi za dozvoljenu brojnost enterokoka.



Slika 8. Enterokoke na podlozi sa eskulinom (levo) i na podlozi sa TTC-om (desno)

<https://www.carlroth.com/de/en/media-for-enterobacteria/bile-esculin-azide-agar/p/cp62.1>

https://www.humeau.com/media/blfa_files/274620.pdf

Pored navedenih standardnih indikatora fekalnog zagađenja za proveru sanitarnog kvaliteta vode mogu se koristiti idrugi stanovnici crevnog trakta čoveka i toplokrvnih životinja. Tu spadaju: *Clostridium perfringens*, *Bifidobacterium* i *Bacteroides*, bakteriofagi i neke druge bakterijske grupe.

10.1.4. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens je gram pozitivan anaerobni štapić koji redukuje sulfite i formira spore, a isključivo je fekalnog porekla. Spore su vrlo otporne na toplotu (75 ° C tokom 15 minuta), dugo opstaju u životnoj sredini i vrlo su otporne na dezinficijense. Otporne endospore ograničavaju njegovu primenu kao indikatora, jer se često nalaze u zemljištu i sedimentima. Međutim, njihovo prisustvo sugerise se da bi to mogao biti pokazatelj prošlog (starog) zagađenja i model organizam uklanjanja parazitskih protozoa ili virusa tokom prečišćavanja vode za piće i otpadnih voda. Koristi se kao indikator kvaliteta vode za piće u Evropi. Detektuje se na sulfidnom dubokom agaru (slika 9), gde se postižu anaerobni uslovi, a inokulaciji prethodi zagrevanje uzorka na 80°C 10-15 min (da se unište vegetativne ćelije i da se spore iniciraju na klijanje).

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda



Slika 9. Sulfitoredukujuće klostridije u dubokom agaru, u kome u anaerobnim uskovima stvaraju crne kolonije od produkovanog H_2S , koji reaguje sa gvožđem u podlozi i nastaje crni FeS https://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-634_TDS_EN.pdf

10.1.5. *Bifidobacterium* i *Bacteroides*

Bifidobacterium i *Bacteroides* vrste su anaerobne bakterije koje su takođe predložene kao potencijalni indikatori. *Bacterioides* spp. su gram pozitivne štapičaste bakterije pronađene u crevima ljudi i životinja. Strogi su anaerobi i ne opstaju dugo u okruženju, a predloženi su kao indikatori nedavnog fekalnog zagađenja. Češće su u ljudskim crevima od *E. coli* i predstavljaju 30% ukupnih bakterija fecesa. Neke od *Bifidobacterium* su prvenstveno povezane sa ljudima, tj. predloženo je da se pomoću njih može razlikovati fekalno zagađenja poreklom od ljudi i životinja. Izolacija ovog strogog anaeroba je zahtevna, ali je primena lančane reakcije polimeraze (PCR) mnogo jednostavnija.

10.1.6. Bakteriofagi

Zbog stalnog prisustva u kanalizaciji i zagađenja vode, upotreba bakteriofaga (ili bakterijskih virusa) predložena je odgovarajući pokazatelji fekalnog zagađenja. Ovi organizmi su takođe predloženi kao indikatori virusnog zagađenja. To je zato što struktura, morfologija i veličina, kao i ponašanje u vodenoj sredini mnogih bakteriofaga odgovara enteričnim virusima. Iz ovih razloga, oni se takođe često koriste za procenu rezistencije virusa na dezinfekciona sredstva, za procenu sudbine virusa tokom tretmana otpadnih voda i kao indikatori za viruse u površinskim i podzemnim vodama.

Upotreba bakteriofaga kao indikatora fekalnog zagađenja zasniva se na pretpostavci da njihovo prisustvo u uzorcima vode označava prisustvo bakterije sposobnih da podrže replikaciju faga. Postoje dve grupe faga koji su značajni sa ovog aspekta: somatski kolifagi, koji se vezuju za receptore na ćelijskom zidu *E. coli* i F specifični RNA kolifagi, koji

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

inficiraju sojeve *E. coli* koji imaju F plazmide, tj. F pile („muške“ ćelije, androfagi). Značajna prednost korišćenja kolifaga je u tome što se oni mogu detektovati jednostavnim i jeftinim tehnikama koje daju rezultate u roku od 8 do 18 sati. Koristi se metoda sa dva sloja agara, jednim slojem ili MPN (videti deo o virusima). Nakon inkubacije, na konfluentnom rastu bakterija javljaju se plake, tj. zone prosvetljenja nastale umnožavanjem virusa (slika 10), a brojnost se određuje na osnovu broja plaka i inokulisanog razređenja, a izražava u zapremini od 1mL do 100 mL. Kolifagi specifični za F pile su po veličini i obliku slični mnogim patogenim humanim enteričnim virusima. Kolifagi phiX174, M13, MS-2, PRD-1 i dr. su fagi koji se najčešće koriste kao modeli za procenu efikasnosti dezinficijenas. Budući da se F specifični fagi retko otkrivaju u ljudskom fecesu i ne pokazuju direktnu vezu sa nivoom fekalnog zagađenja, ne mogu se smatrati dobrim pokazateljima fekalnog zagađenja. Međutim, njihovo prisustvo u velikom broju u otpadnim vodama i relativno visoka otpornost na hlorisanje, doprinosi njihovoj primeni kao indeksa zagađenja otpadnih voda i kao potencijalnih pokazatelja enteričnih virusa. Takođe su i bakteriofagi *Bacteroides fragilis* predloženi kao potencijalni indikatori prisustva ljudskih virusa u životnoj sredini, tj. uzorcima vode. Kako su *Bacteroides* spp. glavna komponenta ljudskog izmeta, bakteriofagi aktivni protiv ovih organizama mogu biti pogodni pokazatelji fekalne kontaminacije humanog porekla i virusne kontaminacije. Izgleda da su bakteriofagi koji zaraze *B. fragilis* isključivo ljudskog porekla, što može pomoći da se diskriminiše zagađenje poreklom od čoveka u odnosu na životinje. Oni su odsutni iz prirodnih staništa, što je prednost u odnosu na kolifage koji se nalaze u staništima van ljudskog crevnog trakta. Nisu u stanju da se umnožavaju u životnoj sredini i stopa njihovog propadanja je slična onoj kod humanih enteričnih virusa. Međutim, njihov domaćin je anaerobna bakterija koja uključuje komplikovanu i zahtevnu metodologiju, koja ograničava njihovu primenu kao indikatorskih organizama u rutinskim analizama.



Slika 10. Plake bakteriofaga na bakterijskom rastu

10.1.7. Drugi mogući indikatori

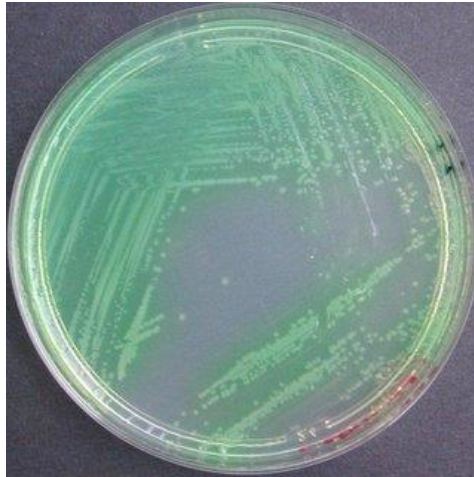
Postoje i drugi organizmi koji imaju potencijal kao alternativni indikatorski organizmi ili za upotrebu u određenim slučajevima (npr. rekreativne vode). Tu spadaju *Pseudomonas* spp., kvasci, acido-alkoholno rezistentne mikobakterije (*Micobacterium fortuitum* i *M. phlei*), *Aeromonas*, *Staphylococcus* itd.

Unutar roda *Pseudomonas*, vrsta značajna za javno zdravlje je *P. aeruginosa*, Gram-negativna, nesporulativna bakterija u obliku štapića. Najčešće bolesti povezane sa ovim organizmima su infekcije oka, uha, nosa i grla. To je ujedno i najčešći oportunistički patogen koji izaziva infekcije kod pacijenata sa opekotinama i osoba sa oslabljenim imunitetom. Karakteristika ove bakterije je da može da proizvodi plavozeleni pigment piocijanin ili fluorescentni pigment fluorescein, ili oba ova pigmenta, koji difunduju u podlogu (slika 11). Brojni slučajevi folikulitisa, dermatitisa, infekcije uha (kod plivača) i urinarnog trakta uzrokovani su vrstom *P. aeruginosa*, a povezani sa kupanjem u kontaminiranoj vodi, loše održavanoj bazenskoj vodi ili hidromasažnim kadama. Zbog ovoga i stalnog prisustva u velikom broju u kanalizaciji, *P. aeruginosa* je predložena kao potencijalni indikator za vodu u bazenima, hidromasažnim kadama i drugim rekreativnim objektima. Međutim, kako je ovaj organizam sveprisutan u prirodi i može da se umnožava u prirodnim uslovima (može da raste i u destilovanoj vodi), veruje se da ima malu vrednost za indikaciju fekalne kontaminacije.

Koliformi se već dugi niz godina koriste za procenu kvaliteta vode u bazenima, ali kontaminacija često nije fekalnog porekla, već su infekcije povezane prvenstveno sa respiratornim traktom, kožom i očima. Iz tog razloga, za vode za rekreaciju predložena je gram pozitivna bakterija *Staphylococcus aureus* i kvasac *Candida albicans*. Rekreativne vode mogu poslužiti kao rezervoar za infekcije kože izazvane *S. aureus*, a neki autori preporučuju da se ovaj organizam koristi kao dodatni pokazatelj sanitarnog kvaliteta vode za rekreaciju, jer je njegovo prisustvo povezano sa ljudskom aktivnošću.

Rod *Aeromonas* uključuje fakultativno anaerobne gram negativne štapiće, a samo je *Aeromonas hydrophila* dobio pažnju kao organizam sa potencijalnim sanitarnim značajem. *Aeromonas* se javlja u nezagađenim vodama kao i u kanalizaciji i vodama zagađenim kanalizacijom. Organizam može biti patogen za ljude, druge toplokrvne i hladnokrvne životinje, uključujući ribe. Epidemije koje se prenose hranom povezane sa *A. hydrophila* su dokumentovane i ova bakterija se smatra oportunističkim patogenom ljudi. Zbog povezanosti sa sredinama bogatim nutrijentima, predložen je kao indikator nutritivnog statusa prirodnih voda.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda



Slika 14. *P. aeruginosa* na cetrimid agaru na kome stvara zeleni egzopigment

10.1.8. Primena bakterijskih i virusnih indikatora

10.1.8.1. Procena mikrobiološkog kvaliteta voda sa sanitarnog aspekta

Da bi se omogućila procena nivoa fekalnog zagađenja, predložen je sistem podele vodnih tela na pet klasa. Kategorizacija koja je predložena 2001. godine je zasnovana na brojnosti tri standardna pokazatelja fekalnog zagađenja: ukupnih koliforma, fekalnih koliforma i fekalnih streptokoka (Tabela 6).

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Tabela 44 Procena mikrobiološkog kvaliteta površinskih voda zasnovana na brojnosti bakterija standardnih indikatora fekalnog zagađenja (ukupni koliformi, fekalni koliformi i fekalne streptokoke). Brojnost bakterija je data u jedinicama CFU/100ml ili MPN/100ml (Kavka & Poetsch, 2002)

TABLE MB-1: Class limit values for bacteriological determinands

Microbiological water quality assessment		CLASS				
Determinand	Pollution by organic matter	I low	II moderate	III critical	IV strong	V excessive
Colony Count 22°C in 1 ml water		< 500	> 500 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000-750 000	> 750 000
Determinand	Faecal pollution	low	moderate	critical	strong	excessive
Total coliforms	in 100ml water	< 500	> 500 -10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000 - 1000 000	>1000 000
Faecal coliforms	in 100ml water	< 100	> 100 - 1 000	> 1 000 - 10 000	> 10 000 - 100 000	> 100 000
Faecal Streptococci	in 100ml water	< 50	> 50 - 100	> 100 - 1 000	> 1 000 - 10 000	> 10 000

Rezultati brojnih istraživanja su ukazali da su ukupni koliformi prilično nepouzdan pokazatelj fekalnog zagađenja zbog predstavnika koji nisu poreklom iz crevnog trakta čoveka. To je razlog zašto je ovaj parameter u novije vreme izostavljen iz sistema klasifikacije.

Savremeniji sistem kategorizacije podrazumeva podelu površinskih voda na pet klasa na osnovu brojnosti *E.coli* i crevnih enterokoka (Kavka i sar., (2006) i Kirschner i sar., (2009); Tabela 7). Prilikom predlaganja novije šeme dve vrednosti su izvedene iz EU Direktive o kvalitetu vode za kupanje 2006 (Evropski parlament i Savet, 2006). U pitanju su 1000 CFU/MPN za *E. coli* i 400 CFU/MPN za enterokoke u 100 ml vode i one predstavljaju osnovu predložene klasifikacije. Nivoi fekalnog zagađenja u I i II klasi kvaliteta su ispod ovih vrednosti, a III, IV i V klasa kvaliteta ih premašuju. Treba napomenuti i to da prema EU Direktivi o vodama za kupanje, procena mikrobiološkog kvaliteta površinskih voda za kupanje i rekreaciju uvek podrazumeva brojnosti koje su dobijene na osnovu 95-

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

percentila i 90-percentila u najmanje 16 uzorkovanja iz tekuće sezone i tri prethodne sezone

Tabela 45 Klasifikacija kvaliteta površinskih voda zasnovana na mikrobiološkim parametrima fekalnog zagađenja. Koncentracije indikatora fekalnog zagađenja su date kao CFU/100 ml i MPN/100 ml (Kavka et al 2006; Kirschner et al 2009) (preuzeto iz Kirschner et al., 2016)

Klasifikacija zagađenja	fekalnog	Klasa				
		I	II	III	IV	V
Parametar	Nivo fekalnog zagađenja	nizak	umeren	kritičan	visok	Vrlo visok
Escherichia coli	U 100 ml vode	≤ 100	> 100-1000	> 1000-10000	> 10 000-100 000	> 100 000
Intestinal Enterococci	U 100 ml vode	≤ 40	> 40- 400	>400-4000	>4000-40000	> 40 000

Klasifikacija površinskih voda koja se zasniva isključivo na standardnim indikatorima fekalnog zagađenja može da ukaže da li je i kada je došlo do fekalnog zagađenja, ali nam ne pruža informacije o izvoru zagađenja.

Bakterijski i virusni indikatori se koriste za procenu kvaliteta površinskih voda, ali i voda za rekreaciju, podzemnih voda, vode za piće i sl. U tabeli 8 prikazani su standardi EU za vodu za piće iz slavine i za flaširanu vodu.

Tabela 46 Kriterijumi ispravnosti vode za piće prema EU standardima

Parametar	Voda iz slavine	Flaširana voda
E. coli	0/100 mL	0/250 mL
Fekalne streptokoke	0/100 mL	0/250 mL
Sulfit-redukujuće klostridije	0/20 mL	0/50 mL
P. aeruginosa	0/100 mL	0/250 mL

10.2. Bakterije kao indikatori kvaliteta površinskih voda sa opšteg ekološkog aspekta

U bakterijske indikatore opšteg ekološkog stanja površinskih voda spadaju aerobne heterotrofne i fakultativno oligotrofne bakterije. Obe grupe su indikatori prisustva lako razgradljivih organskih materija koje u vodno telo mogu dospeti usled porasta trofičnosti, spiranjem (hranljivih materija) sa okolnog zemljišta ili izlivanjem otpadnih voda.

10.2.1. Aerobne heterotrofne mezofilne bakterije

Aerobne heterotrofne bakterije (AHB) u vodi podrazumevaju prilično divergentnu grupu organizama. Neki od njih su ubikvitarni u svim akvatičnim sistemima, dok su drugi prisutni samo u slučajevima kada dolazi do različitih uticaja iz okoline kao što su spiranje sa okolnih površina nakon obilnih padavina, izlivanje otpadnih materija, uticaj populacija divljih životinja, zemljišta, vegetacije i čestica prašine iz vazduha. Njihovo stalno prisustvo i potencijal kolonizacije u akvatičnim sredinama se održava zahvaljujući dostupnošću nutrijenata, pogodnoj temperaturi i pH vode i pogodnoj koncentraciji rastvorenog kiseonika. Brojni faktori uključujući predatorstvo od strane ameba i nematoda, antagonizam kompeticije sa ostalim mikroorganizmima, izloženost sunčevoj svetlosti i sedimentacija ograničavaju rast i širenje populacije heterotrofa. Sezonske promene u temperaturi vode i količini otpadnih materija koje se izlivaju u vodena staništa su drugi važan faktor koji utiče na promene u bakterijskom profilu i promene u pogledu dominacije ove grupe bakterija.

Procenjeno je da zajednica heterotrofnih bakterija može da čini i do 90% svih kultivabilnih bakterija koje su detektovane u površinskim vodama. Prema tome promene brojnosti heterotrofa u najvećoj meri utiču na fluktuacije u bakterijskoj populaciji površinskih voda.

Među dominantne rodove heterotrofnih bakterija površinskih voda spadaju *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, ekološke koliformne bakterije (*Klebsiella*, *Aerobacter*, i *Citrobacter*), i fekalne koliforme (*Escherichia* i fekalne *Klebsiella*). Među ovim širokim spektrom organizama su neke vrste koje imaju sposobnost formiranja jarkih boja nefotosintetskih, nedifuzibilnih pigmenata (žuta, narandžasta, ružičasta, ljubičasta, smeđa i crna). Ovo jedinstveno svojstvo se često i ne primećuje u rutinskoj obradi uzoraka vode, osim kada je inkubacija heterotrofnih bakterija duža od tri dana. Pigmentisane bakterije se pojavljuju u najvećem broju u vodi visokog kvaliteta (vodovod, flaširana voda i uređaji koji su priključeni na vodovod). Utvrđeno je da su u pitanju predstavnici rodova *Flavobacterium* i neke vrste *Mycobacterium*, *Serratia*, *Corynebacterium* i *Chromobacterium*.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Brojnost AHB u vodi varira u velikoj meri, u zavisnosti od vodenog okruženja i unetih zagađujućih materija. Primeri brojnosti AHB u rekama i sirovoj kanalizaciji dati su u tabeli 9 gde se može videti kakav je uticaj otpadnih materija na stanje površinskih voda.

Tabela 47 Brojnost aerobnih heterotrofnih bakterija u rekama i neprerađenim (sirovim) otpadnim vodama (preuzeto iz Geldreich 2002, Encilopedija Env. Microbiology)

Kvalitet vode

Brojnost AHB CFU/ml

Table 1. Heterotrophic Bacterial Densities in Various Rivers and Sewage

Water Quality	Heterotrophic Bacterial Density per mL
<i>River Characteristic</i>	
Remote streams	<500
Relatively clean rivers	5,000–10,000
Moderately polluted river water	25,000–50,000
Polluted river water	≤100,000
Grossly polluted rivers	≤1,000,000
<i>Municipal Raw Sewage</i>	
Worcester S.A.	11,100,000
Pietermaritzburg, S.A.	13,700,000

Source: Data adapted from I. Daubner, *Microbiologie des Wassers*, Inst. f. Limnologie, Slowakischen Academic der Wissenschaften, Bratislava, Slovakia, 53–104, 1972 (6); and W. O. K. Grabow and E. M. Nupen, *Water Res.* 6, 1557–1563 (1972) (7).

10.2.1.1. Poreklo heterotrofnih bakterija

Sva prirodna vodena okruženja (tj. površinske vode, podzemne vode, izvori) imaju svoj jedinstven "otisak" odnosno bakterijski profil. Pored toga, postoji stalan upliv različitih privremenih, prolaznih, organizama koji su u vodno telo dospeli uglavnom usled antropogenih aktivnosti.

Autohtone heterotrofne bakterije. U pitanju su bakterije za koje su površinske vode prirodno stanište. Egzistiraju u vodnim telima koja su van domašaja ljudskih aktivnosti. Tu pripadaju uglavnom sveprisutne saprotrofne bakterije iz rodova *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* i *Alcaligenes*. Ove bakterije u vodenu sredinu mogu dospeti kišom, olujnom prašinom, spiranjem sa

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

površine zemlje ili sa površine okolne vegetacije. Neke autohtone bakterije je teško otkriti pomoću tradicionalnih laboratorijskih kultivacionih tehnika zbog njihovog sporog rasta ili posebnih nutritivnih zahteva. Poslednjih decenija beleži se porast interesovanja za ove organizme zbog njihove potencijalne uloge u stvaranju biofilma posebno u podzemnih vodama, vodovodnim mrežama, rashladnim tornjevima i industrijskim procesima.

Alohtone heterotrofne bakterije. Najveća briga za javno zdravlje u vezi prirodnih površinskih voda je prisustvo alohtonih mikroorganizama koji su u vodno telo dospeli sa komunalnim otpadnim vodama, otpadnim vodama prehrambene industrije, bujičnim vodama urbanih i ruralnih područja i otpadnim vodama životinjskih farmi. Mikroorganizmi komunalnih otpadnih voda pretežno potiču od fekalnog otpada, vode za kupanje, otpada koji nastaje pripremom hrane u kuhinji i urbanih bujica. Na taj način će razni patogeni poreklom od bolesnih ljudi, kućnih ljubimaca i divljih životinja naći put do površinskih vodnih resursa putem otpadnih voda. Mnoge od ovih patogenih bakterija, takve kao *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, i *Escherichia coli* 0157: H7, su aerobne heterotrofne bakterije. Na sreću, među mikroorganizmima raznih otpadnih voda postoji mnogo korisnih organizama koji su najvećim delom odgovorni za biološku dekompoziciju biorazgradivog otpada. Neke od ovih korisnih bakterija su mutirale kako bi bolje razgradile jedinstvene organske komplekse koji dospevaju u komunalne i industrijske otpadne vode.

Šećerane, uljare, mesna industrija, industrija papira takođe mogu imati snažan uticaj na kvalitet površinske vode. Povišene koncentracije hranljivih materija oslobođenih u industrijskim otpadnim vodama često vode do dramatičnog porasta heterotrofnih bakterija što usporava prirodni proces samoprečišćavanja u vodi recipijenta. Bujice nakon obilnih kiša spiraju zemljište i betonske površine gradskih i seoskih naselja, a potom preko okolnog zemljišta i vegetacije odnose zarobljene heterotrofne bakterije do najbližih vodotokova. Seoske bujice nastale nakon kiše mogu izvršiti prenos značajnog broja bakterija iz stočnih farmi u vodotok. Ako se otpadne vode stočarske proizvodnje ne preusmeravaju u lagunu ili deponiju, bujica može odneti veliku količinu heterotrofnih bakterija, uključujući i crevne patogene do recipijentnih površinskih voda.

Ove bakterije su obično izolovane iz površinske i podzemne vode, a rasprostranjeni su u tlu i vegetaciji (uključujući i povrće koje se jede sirovo). Neki članovi ove grupe su oportunistički patogeni (npr. *Aeromonas*, *Pseudomonas*), ali nema dokaza da ingestijom mogu uzrokovati oboljenja. U vodi za piće, broj HPC bakterija može varirati od manje od 1 do više od 10^4 CFU/mL, a pod uticajem su temperature, prisustva zaostalog hlora i nivoa asimilabilne organske materije. Ovi mikroorganizmi nemaju nikakav ili imaju mali zdravstveni značaj. Međutim, HPC može da naraste do veoma velikog broja u flaširanoj vodi i na uglju u filterima za vodu koji se koriste u domaćinstvu. Izvedene su studije za procenu uticaja HPC na zdravlje i nisu pokazale signifikantan uticaj na zdravlje kod osoba koje koriste vodu sa visokim HPC.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Iako HPC nije direktan pokazatelj fekalne kontaminacije, on ukazuje na razlike u kvalitetu površinske i vode za piće kao i na potencijal za preživljavanje i ponovni rast patogena. Ove bakterije također mogu ometati detekciju koliforma i fekalnih koliforma kada su prisutne u velikom broju. Bilo je preporučeno da HPC ne prelazi 500 po ml u vodi iz česme. Na osnovu toga može se reći da njihova brojnost ipak predstavlja koristan parameter za procenu nivoa organskog opterećenja površinskih voda i za procenu rizika po ljudsko zdravlje.

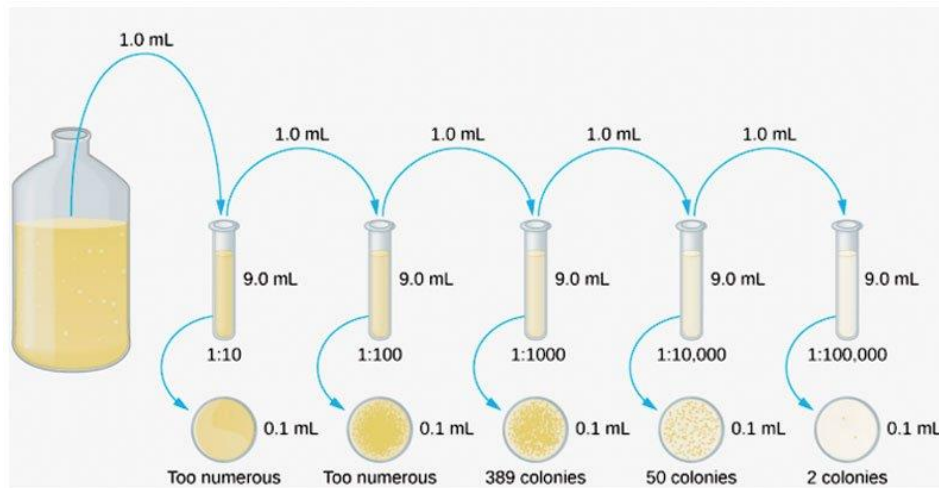
10.2.1.2. *Određivanje brojnosti aerobnih heterotrofnih bakterija*

Za određivanje brojnosti AHB koriste se standardne odgajivačke metode na čvrstim hranljivim podlogama. Za njihovu izolaciju mogu se koristiti razređeni ili obogaćeni medijumi. Prvi se koriste prilikom određivanja njihove brojnosti u vodovodnim sistemima gde je potrebno obezbediti hranljivu podlogu koja je po nutritivnim osobinama slična prečišćenju vodovodnoj vodi i omogućiti oporavak ćelija koje su oštećene prilikom dezinfekcije. Obogaćene hranljive podloge kao što su **hranljivi agar (HA)**, **mesopeptonski agar (MPA)** ili **standard plate count (SPC) medijum** se koriste za izolaciju bakterija čije ćelije su vitalne poput bakterija iz sirove kanalizacione otpadne vode ili iz otpadnih voda prehrambene industrije. Obogaćeni medijum omogućava brzi rast bakterija i ranu vizuelizaciju kolonija. Period inkubacije do dobijanja konačnih rezultata zavisi od temperature.

Temperatura inkubacije ne kontroliše samo spektar organizama koji se mogu iskultivisati, već i brzinu rasta kolonija. Tradicionalna temperatura inkubacije od 35° odnosno 37° C se koristi za određivanje broja kolonija AHB u vodi iz sistema za vodosnabdevanje. Međutim za mnoge od AHB koje vode poreklo iz otpadnih voda, iz okolnog zemljišta, sa vegetacije i iz nefekalnih otpadnih voda ova temperatura nije odgovarajuća. One mnogo bolje reaguju ako je temperatura **inkubacije između 20° i 28°C**. Vreme inkubacije je povezano sa izborom temperature. Organizmi rastu mnogo sporije na 20°C nego na 35°C tako da dva ili tri dana može biti dovoljno za adekvatnu vizuelizaciju kolonije na 35°C. Pet do sedam dana je neophodno da na hranljivim podlogama izrastu vidljive kolonije, ako je temperatura inkubacije između 20 i 28° C. Za neke bakterije, za vizualizaciju kolonije je potrebna inkubacija od 28 do 30 dana kako bi se preciznije odredio "ukupan broj" svih AHB prisutnih u uzorku vode. Ovako dugačka inkubacija je nepraktična za rutinsku laboratorijsku analizu uzoraka i pruža malo dodatnih podataka koji bi bili značajni za informacije o kvalitetu vode. Takođe postoji ozbiljan problem gubitka vlage u medijumu za kultivaciju, kao i porast rizika od kontaminacije iz vazduha tokom produženog vremena inkubacije. U praktičnom smislu vreme inkubacije koje je potrebno za optimalan oporavak i rast heterotrofnih bakterija u uzorku površinske vode je pet do sedam dana. To je period koji se uklapa u normalan operativni raspored laboratorije.

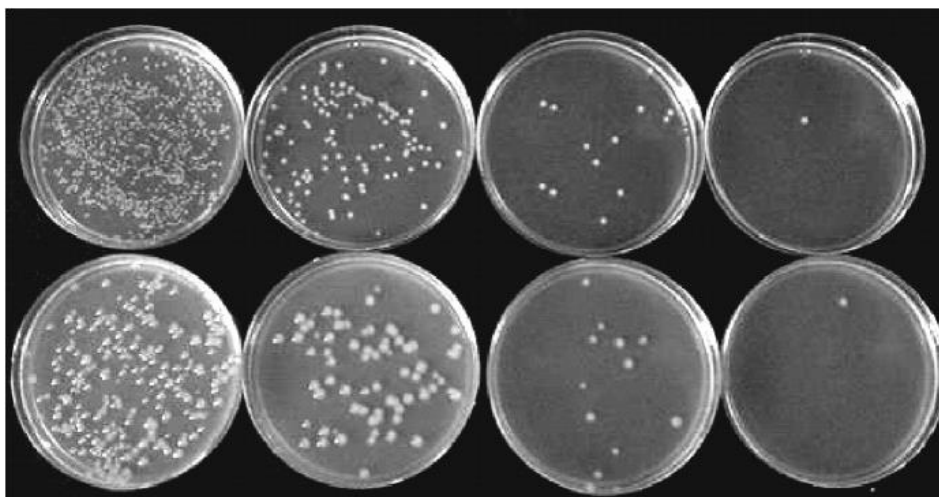
10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Procena broja aerobnih i fakultativno anaerobnih bakterija u vodi koje dobijaju ugljenik i energiju iz organskih jedinjenja se sprovodi putem određivanja broja kolonija ovih bakterija u određenoj zapremini (HPC – heterotrophic plate count). Određivanje brojnosti heterotrofni bakterija obično se vrši tako što se pripreme desetostepena razređenja (slika 10), a zatim se određena zapremina uzorka (npr. 0,1 mL) inokuliše metodom razmazivanja po površini čvrste hranljive podloge uz inkubaciju na 35°C tokom 48 sati.



Slika 10. Priprema desetostepenih razređenja uzorka

Nakon inkubacije, u zavisnosti od inokulisanog razređenja uzorka, izrastu kolonije koje mogu da se prebroje (slika 11). Broje se samo ploče na kojima ima 30-300 kolonija. Tako ako je zasejano razređenje 1:100 (10^{-2}) u zapremini 0,1 mL i ako je izraslo 56 kolonija, onda je brojnost bakterija $56 \times 100 \times 10 = 56.000$ CFU/mL.



Slika 11. Kolonije heterotrofni bakterija na hranljivoj podlozi. Sa leva nadesno su zasejana različita razređenja uzorka (od manjeg ka većem), pa se broj kolonija smanjuje.

Nisko-hranljivi medijum, R2A, široko se koristi za bakterije oštećene dezinfekcionim sredstvima. Ovaj medijum se preporučuje za upotrebu sa inkubacijom 5-7 dana na 28°C,

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

a kolonije koje na njemu izrastu često su intenzivno pigmentisane (slika 12). HPC brojnost može se uveliko razlikovati u zavisnosti od temperature inkubacije, korišćenog medijuma i dužine inkubacije.



Slika 12. Kolonije na R2A podlozi; obično se detektuje veća brojnost za isti uzorak nego kad se koriste uobičajene podloge za heterotrofe; kolonije su često pigmentisane i mnoge bakterije koje ne mogu da rastu na uobičajenim podlogama mogu da rastu na ovoj podlozi

10.2.1.3. *Aerobne heterotrofne bakterije kao indikator kvaliteta površinskih voda*

Tokom brojnih istraživanja utvrđena je jasna korelacija između količine lako razgradljive organske materije i broja kultivabilnih aerobnih heterotrofnih bakterija. Prve predloge o tome na koji način broj AHB može poslužiti kao parameter organskog opterećenja dali su Daubner (1972) i Kohl (1975). Austrijski mikrobiolog Kohl je nakon opsežnog mikrobiološkog ispitivanja austrijskog dela Dunava utvrdio jasnu korelaciju između količine organskog zagađenja i broja heterotrofa. Rezultati koje je publikovao 1975. kao i predlog klasifikacije površinskih voda koja je zasnovana na brojnosti AHB su bili vrlo brzo prihvaćeni od strane mikrobiologa koji su se bavili procenom organskog zagađenja površinskih voda na osnovu brojnosti kultivabilnih heterotrofa inkubiranih na 22° C (Kohl, 1975). Klasifikacija površinskih voda na pet klasa odnosno pet nivoa organskog zagađenja na osnovu brojnosti AHB prikazana je u tabeli 10.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Tabela 48 Klasifikacija nivoa organskog zagađenja reka lakorazgradljivim organskim materijama na osnovu broja aerobnih heterotrofnih bakterija AHB CFU/ml (Kohl, 1975 pruzeto iz Kavka et al, 2006)

Klasifikacija organskog zagađenja		Klasa				
		I	II	III	IV	V
Parametar	Organsko zagađenje	malo	umereno	kritično	jako	izuzetno
Broj AHB (22°C)	U 1 ml vode	500	500-10000	10000-100000	100000-750000	>750000

Vrednosti brojnosti AHB prikazani u tabeli 10 pokazuju da veća brojnost bakterija ukazuje na veću opterećenost vode lakorazgradljivom biodegradabilnom organskom materijom. Opšteprihvaćen stav je da brojnost heterorofa u rekama ne bi trebalo da bude veća od 10^4 CFU/ml AHB (II klasa klasifikacije po Kohl-u). Tokom međunarodnog ispitivanja Dunava u 2001. godini brojnost heterotrofa se kretala u intervalu od 240-54000 CFU/ml. Više od 10000 CFU·ml⁻¹ je zabeleženo na svega 13% od ukupno 98 uzoraka. Lokaliteti sa povećanom brojnošću bakterija su bili u blizini ušća pritoka ili nizvodno od velikih gradova i jasno su ukazivali na priliv veće količine organskog zagađenja (Kavka&Poetsch, 2002).

Među heterotrofnim bakterijama koje izazivaju posebnu zabrinutost su patogeni, oportunistički patogeni i nosioci faktora mikrobne rezistencije. Ove bakterije zajedno sa sirovom vodom mogu dospeti u sistem za vodosnabdevanje, u vode za rekreaciju, do uređaja koji služe za rashlađivanje tako mogu ugroziti zdravlje ljudi. Nažalost, detekciju odnosno diferencijaciju ovih organizama nije moguće lako izvesti u rutinskom monitoringu. Praktičan pristup u cilju smanjenja rizika od patogena se ogleda u tome da se smanji ukupan broj AHB.

Nijedno ispitivanje vode neće otkriti sve heterotrofne bakterije koje se mogu naći u uzorku vode zbog njihovih različitih nutritivnih zahteva, jedinstvene temperature inkubacije i potrebe za produženim vremenom inkubacije. S obzirom na ova ograničenja, njihova upotreba u monitoringu kvaliteta površinskih voda je ograničena. Posle prve međunarodne ekspedicije za ispitivanje Dunava sprovedene 2001. godine (Joint Danube Survey) brojnost AHB je isključena kao parametar kvaliteta. Međutim, brojnost heterotrofnih bakterijskih populacija i dalje se koristi kao mera efikasnosti tretmana vode i potencijala stvaranja biofilma u vodovodnim distributivnim mrežama. Područja koja treba istražiti su upotreba brzog testa (<4 h) za rano otkrivanje broja heterotrofnih bakterija čime bi se obezbedio sistem za nadzor. Mogao bi se koristiti za brzo otkrivanje

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

promena kvaliteta vode, dok bi razvoj tehnike utvrđivanja bakterijskog profila AHB u uzorcima vode mogao utvrditi izvor zagađenja.

10.2.2. Fiziološke grupe bakterija

Pored utvrđivanja fekalne kontaminacije voda, i stepena opterećenja lakorazgradljivim organskim materijama u ekosistemima je ponekad potrebno utvrditi i prisustvo određenih fizioloških grupa bakterija, kako bi se (1) odredila mogućnost autopurifikacije (samoprečišćavanja) ekosistema zagađenih određenom materijom ili da se (2) ukaže na prirodu i potencijalni izvor zagađenja.

U ove svrhe određuje se prisustvo i brojnost različitih fizioloških grupa bakterija. One predstavljaju grupe bakterija u vodenim sredinama koje se karakterišu zajedničkom fiziološkom osobinom. Najčešće zajedničko svojstvo je posedovanje enzima za razgradnju određenih supstrata. U cilju određivanja nivoa i prirode organskog zagađenja može se pratiti brojnost sledećih grupa bakterija:

- **Proteolitske bakterije** vrše razgradnju proteina do aminokiselina. U ovu svrhu se odgovarajuća razređenja uzoraka inokulišu na čvrstu podlogu sa proteinima (npr. podloga sa 4% želatina), a nakon rasta bakterija ploče se prelivaju sa $HgCl_2$, da se istalože proteine. Zone oko kolonija koje ostaju prosvetljene ukazuju na proteolitičku aktivnost i samo se te kolonije smatraju proteolitičkim. Odgovarajućim metodama može se detektovati i prisustvo/brojnost grupe amonifikatora, koja vrši dezaminaciju amino-kiselina (MPN metodom na hranljivom bujonu uz upotrebu Krupovog reagensa ili na druge načine).
- **Lipolitičke bakterije** razgrađuju lipide i njihova brojnost se može utvrditi na osnovu razgradnje supstrata tributirin, koji se dodaje u podlogu u koncentraciji 0,3%. Podloga je zamućena i nakon rasta bakterija, oko kolonija koje razgrađuju lipide, javlja se zona prosvetljenja, zbog razgradnje supstrata. U podlogu se može dodati i Tween80 u koncentraciji 1%. Podloga sadrži i jone kalcijuma, pa ako se razgrade lipidi, tj. Tween 80, masne kiseline koje su produkti stvaraju oko kolonija kristale kalcijumovih sapuna. Broje se samo kolonije sa zonom kalcijumovog sapuna u neposrednoj blizini.
- **Saharolitske bakterije** razgrađuju saharozu mada se slična metodologija može koristiti za sposobnost fermentacije drugih šećera. Za određivanje njihove brojnosti u agarizovanu MOF podlogu se dodaje 1% saharoze i indikator fenol-red. Ako bakterija razgrađuje saharozu stvara kiseline, oko kolonije boja indikatora se menja iz crvene (neutralna sredina) u žutu (kisela sredina).
- **Amilolitske bakterije** razgrađuju skrob, a njihova brojnost se može odrediti na agarizovanoj podlozi sa 1% skroba. Nakon inkubacije, odnsono rasta kolonija,

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

ploče se prelivaju Lugolovim rastvorom, koji sa skrobom daje plavo ili crveno obojenje. Broje se samo kolonije oko kojih podloga ostane providna.

- **Azotofiksatori** vezuju atmosferski azot i za njihovu kvantifikaciju se koristi podloga u kojoj nema izvor azota (npr. Ešbi agar). Sve kolonije koje izrastu posle inkubacije mogu da fiksiraju azot (tj. da ga nadomeste vezivanjem atmosferskog azota u organske materije).
- **Ugljovodonik oksidujuće bakterije** razgrađuju teško razgradnjive ugljovodonike koji se mogu naći u nafti. U svrhu određivanja njihove brojnosti koristi se Tauson (ne sadrži izvor ugljenika) ili MSWY agar (sadrži druge izvore ugljenika). U ove podloge dodaje se silka gela na čijoj površini je adsorbovan uljani prah dobijen od nafte. Sve kolonije koje izrastu na Tauson podlozi mogu da koriste ugljovodonike kao jedini izvor ugljenika, dok se u MSWY može dodati TTC da se napravi razlika u metabolizmu ovih izvora ugljenika, jer se proces vrši posredstvom dehidrogenaza, koje mogu da prevode TTC u crveni formazan.
- **Fenol-oksidujuće bakterije** oksiduju fenolna jedinjenja, koja su često toksična za druge organizme. U podlogu se dodaje 0.001% fenola i indikator bromtimol plavo, koji je u neutralnoj sredini plav. Ako bakterija oksiduje fenol stvara kisele metabolite, snižava pH u svojoj okolini i indikator će promeniti boju u žutu.
- **Celulolitske bakterije** su posebno važne, jer mnogi drugi organizmi nemaju celulaze. Da bi se odredila brojnost ovih bakterija u podlogu se kao jedini izvor ugljenika dodaje rastvorljiva celuloza i nakon inkubacije broje se sve izrasle kolonije.
- **Nitrifikatori** su bakterije koje vrše nitritaciju ili nitrataciju, tj. prevode amonijak u nitrite ili nitrate. U ovu svrhu koristi se MPN metoda, a uzorak se inokuliše na podlogu sa amonijačnim azotom i indikatorom fenol crveno. Ako su u epruveti za MPN prisutne ove bakterije, one će stvaranjem nitrita/nitrata sniziti pH podloge i boja indikatora će se promeniti iz crvene u žutu.
- **Denitrifikatori** prevode nitrate u elementarni azot ili u azotne okside. Njihova brojnost se takođe određuje MPN metodom na podlozi sa nitratom kao izvorom azota i indikatorom bromtimol plavo zbog čega je podloga zelena. Obzirom da je proces anaeroban inkubacija se vrši u dubokoj podlozi. U slučaju denitrifikacije podloga poplavi usled povećanja pH vrednosti. Od nastalog molekularnog azota ili azotnih oksida pojavljuju se i mehurići gasa.
- **Miksobakterije** su pomenute više puta kao bakterije koje imaju mogućnost lize drugih bakterija i/ili razgradnje celuloze. Njihova brojnost se može odrediti na podlozi sa ekstraktom šampinjona, a na površinu podloge se kao izvor celuloze stavlja sterilna filter hartija. Nakon inkubacije broje se zone razgradnje filter hartije i tako se određuje brojnost miksobakterija u uzorku (jedna zona razgrađene filter hartije ekvivalentna je koloniji miksobakterija).

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

U zavisnosti od potreba, moguće je određivanje i drugih bakterija u uzorcima (bakterije koje razgrađuju biorazgradivu plastiku, desulfifikatori itd). Određivanje prisutnosti, brojnosti i relativnog udela pojedinih fizioloških grupa može se koristiti u proceni njihovog relativnog udela u ukupnoj kultivabilnoj zajednici bakterija ispitivanog vodnog tela. Na osnovu toga se može proceniti nivo specifičnog organskog zagađenja. Međutim, dosadašnja mikrobiološka ispitivanja nisu bila dovoljno obimna da bi se predložila određena klasifikacija na osnovu brojnosti neke od ovih pomenutih grupa.

10.3. Enzimska aktivnost mikroorganizama kao pokazatelj kvaliteta površinskih voda

10.3.1. Aktivnost beta-D-glukuronidaze kao pokazatelj fekalnog zagađenja

Standardni mikrobiološki indikatori fekalnog zagađenja podrazumevaju primenu klasičnih odgajivačkih mikrobioloških metoda. To podrazumeva pripremu hranljivih podloga, inokulaciju uzorka i inkubaciju bakterija u trajanju od najmanje dva dana. Razmišljanja o skraćivanju vremena za analizu vodila su razvoju brojnih novih tehnika za otkrivanje i procenu broja *E. coli* u vodi. Novije biohemijske metode se zasnivaju na određivanju aktivnosti enzima beta-D-glukuronidaze (GLUase) kao specifičnog biomarkera za identifikaciju *E. coli*. Aktivnost enzima GLUase se otkriva njegovom sposobnošću da cepa specifične hromogene ili fluorogene veštačke supstrate dodate u medijum za kultivaciju ili direktno u filtrirane ćelije. Ovaj pristup doveo je do znatno bržih i specifičnijih metoda za otkrivanje kontaminacije *E. coli* u slatkim vodama.

Alternativni pristup praćenju fekalnog zagađenja površinskih voda je merenje brzine aktivnosti enzima beta-D-glukuronidaze (GLUase), korišćenjem fluorogenih supstrata. Analiza se može izvršiti u roku od 25 minuta, što omogućava brzu i preciznu detekciju indikatora fekalnog zagađenja. Farnleitner i saradnici (2001) su u svojim istraživanjima sprovedenim na austrijskim rekama sa različitim uplivom fekalnog zagađenja utvrdili da postoji visok stepen korelacije između brojnosti *E. coli* i aktivnosti enzima GLUase.

Rezultati njihovih istraživanja sprovedeni na 98 uzoraka rečne vode sugerišu da određivanje enzimске aktivnosti GLUase ima potencijal kao surogat parametar za određivanje koncentracije *E. coli* u vodi. Međutim, kalibracione krive zavisnosti broja *E. coli* i enzimске aktivnosti moraju biti uspostavljene kao preduslov za područja koja se istražuju. Ova tehnika ima veliki potencijal za „on-line“ praćenje kontaminacije *E. coli*, što je u principu već pokazano za neke druge enzimске aktivnosti.

Određivanje enzimске aktivnosti u laboratoriji podrazumeva najpre bakteriološku filtraciju 100 ml rečne vode. Filter se prebacuje u sterilne staklene bočice zapremine 250

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

ml sa 18 ml fosfatnog pufera podešenog na pH 6,4, koje su zatvorene i zagrejane na 37°C. Svim pripremljenim bočicama dodato je 2 ml rastvora supstrata 4-metilumbeliferil-b-D-glukuronida (MUG - 1g MUG ·l⁻¹ dopunjeno sa 1% Triton X-100 v/v). Posude se dobro zatvaraju i inkubiraju na 37°C u laboratorijskoj tresilici (60 obrtaja ·min⁻¹). Nakon 10 minuta, 20 minuta i 30 minuta uzimaju se po dva alikvota od po 5ml inkubiranog uzorka kojima se dodaje po 100 µl 0,1 M NaOH i nakon toga se meri povećanje intenziteta fluorescencije u spektrofotometru pri ekscitaciji na 365 nm i emisiji na 444 nm. Relativni porast fluorescencije izračunat je linearnom regresijom najmanjih kvadrata. Da bi se relativne vrednosti fluorescencije pretvorile u apsolutne koncentracije, metilumbeliferon je dodan kao standard (MUF) sa kalibracionim rastvorima u opsegu od 10 do 800 nM. Aktivnost GLUase je izražena kao produkcija krajnjeg proizvoda enzimske reakcije metilumbeliferona (MUF) u jedinici vremena (nM MUF·min⁻¹). U istim uzorcima odgajivačkim metodama određena je brojnost *E.coli* CFU/100ml. Analiza regresije i delimične korelacije između enzimske aktivnosti i CFU/100ml vrši se odgovarajućim softverskim paketima (Farnleitner et al., 2001). Preko dobijene krive zavisnosti na osnovu enzimske aktivnosti (nM MUF) može se izračunati koncentracija bakterija CFU/100 ml i na osnovu toga proceniti nivo fekalne kontaminacije.

10.3.2. Određivanje fosfatazne aktivnosti u površinskim vodama

Fosfataze su enzimi koji spadaju u grupu fosfomonoestar hidrolaza čiji susprtat u površinskim vodama predstavljaju estri fosforne kiseline i organskih jedinjenja. Ova organska jedinjenja ulaze u sastav biomase i predstavljaju značajne izvore fosfora u vodenim ekosistemima. Da bi mikroorganizmi došli do ortofosfata iz tih jedinjenja neophodno je da imaju sposobnost sinteze fosfataza. Shodno tome aktivnost fosfataza ukazuje na nivo degradacije organske materije u vodenoj sredini. Visoka fosfatazna aktivnost ukazuje da je vodno telo prilično opterećeno organskom materijom. .

Laboratorijska procedura određivanja fosfatazne aktivnosti podrazumeva da se rečna ili jezerska voda doda u sterilne i čiste epruvete sa puferima koji održavaju pH vrednosti od 5, 7 i 9. U reakcionu smešu se dodaje, još i rastvor veštačkog supstrata odnosno paranitrofenil fosfata do konačne koncentracije od 0,5%. Pripremljena smeša se inkubira na 30°C u trajanju od sat vremena. U tom period kisele, neutralne i alkalne fosfataze mikroorganizama napadaju estarske veze u kojima učestvuje fosforna kiselina pri čemu se oslobađa para-nitro fenol koji reakcionu smešu boji u žuto. Nakon prekida reakcije sa 100 µl 10N NaOH na spektrofotometru se na 420nm meri koncentracija proizvoda reakcije odnosno paranitrofenola (µM pNP·l⁻¹·h⁻¹). U brojnim istraživanjima koja su sprovedena od strane Matavulja (1988) utvrđena je prilično visoka korelacija između brojnosti heterotrofa i fosfatazne aktivnosti. Obzirom da se rezultati mogu dobiti već dva sata nakon što uzorak stigne u laboratoriju određivanje fosfatazne aktivnosti predstavlja brzu i jeftinu metodu za procenu nivoa organskog opterećenja ispitivanog vodnog tela.

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Klasifikacija površinskih voda na osnovu nivoa aktivnosti fosfataza se može izvršiti na osnovu predloga Matavulj-a (1986). U tabeli 11 predložena klasifikacija je upoređena sa drufim klasifikacijama Kohl (1975) i Tuempling (1969) čime je nivo aktivnosti fosfataze doveden u vezu sa ostalim mikrobiološkim parametrima.

Tabela 49 Kategorizacija vode prema opterećenosti organskim polutantima na osnovu indeksa fosfatazne aktivnosti vode (Matavulj, 1986)

Indeks	Predlog	Osobine	odgovara klasifikaciji po		
			Kohl	Tümping	Pantle-
fosfatazne aktivnosti ($\mu\text{mol/s/dm}^3$ pNP*) 30 °C	naziva kategorije	vode (uslovno)	(1975)	(1969)	Buck (1955)
ispod 0.01	IA	maksimalno čista			
0.01-0.10	IB	veoma čista	I		katarobna
0.10-0.25	I-II	čista		I	
0.25-0.50	IIA	zadovoljavajuće čista	I-II		oligosaprobna
0.50-1.00	IIB	slabo zagađena	II		
1.00-2.50	II-III	umereno zagađena	II-III	II	β - mezosaprobna
2.50-5.00	IIIA	zagađena	III		β - α
5.00-7.50	IIIB	veoma zagađena	III-IV	III	mezosaprobna
7.50-10.00	III-IV	prljava			α - mezosaprobna
10.00-15.00	IVA	veoma prljava	IV	IV	polisaprobna
iznad 15.00	IVB	maksimalno prljava			

* pNP - paranitrofenol

10.4. Primena molekularnih metoda u praćenju mikrobiološkog kvaliteta površinskih voda

10.4.1. Praćenje mikrobioloških izvora (Microbial source tracking MST)

U protekloj deceniji praćenje mikrobioloških izvora (microbial source tracking - MST) je postao nezaobilazan alat za otkrivanje porekla mikrobiološkog fekalnog zagađenja u različitim vodnim telima.

Praćenje mikrobiološkog kvaliteta vode korišćenjem standardnih indikatora pomoglo je poboljšanju sanitarnih uslova radi zaštite javnog zdravlja, ali je dovelo i do ekonomskih gubitaka zbog zatvaranja rekreacionih plaža na obalama jezera i reka. Pored toga, rešenja za kontaminaciju nisu uvek lako uočljiva i lako prepoznatljiva. Sposobnost razlikovanja izvora fekalne kontaminacije je neophodno za precizniju procenu rizika po ljudsko zdravlje i da bi voda bila bezbedna za ljudsku upotrebu. Potencijalni izvori izazivanja fekalne kontaminacije se mogu klasifikovati u dve grupe: tačkasti izvori koji se lako mogu identifikovati (npr. izlivi sirovih i prečišćenih komunalnih otpadnih voda i izliv kombinovanih kanalizacionih kanala) i netačkasti izvori zagađenja koji su difuzni u okruženju i mogu biti teški za identifikaciju (npr. poljoprivreda, šumarstvo, divljač i urbane bujice itd) (Okabe i sar., 2007). Otkrivanje porekla fekalne kontaminacije je najvažnije za procenu zdravstvenih rizika, kao i određivanja mera i aktivnosti neophodnih za rešavanje problema (Scott et al., 2002). Kao rezultat potrebe razvijene su brojne metode za identifikovanje fekalne kontaminacije kao i razlikovanje izvora odakle ona potiču. Tačna identifikacija izvora može olakšati eliminaciju patogenih mikroorganizama iz vode koji predstavljaju glavnu pretnju za javno zdravlje (Simpson i sar., 2002).

10.4.2. Praćenje mikrobioloških izvora

Metode praćenja mikrobioloških izvora (MST – Microbial Source Tracking) su namenjene razlikovanju ljudskih od ostalih izvora fekalnog zagađenja. Neke od njih su dizajnirane tako da međusobno razlikuju fekalnu kontaminaciju koja potiče od pojedinih životinjskih vrsta (Griffith et al., 2003). MST je oblast istraživanja koja se brzo razvija sa potencijalom da pruži važne informacije za efikasno upravljanje vodnim resursima (Stoeckel et al., 2004). MST metode su obično podeljene u dve kategorije (Tabela 14.1). Prvu kategoriju čine bibliotečki zavisne metode koje se oslanjaju na identifikaciju izolata bakterija poreklom iz različitih fekalnih izvora i uzoraka vode tako što se oni upoređuju sa „bibliotekom“ (bazom podataka) bakterijskih sojeva izolovanih iz poznatih fekalnih izvora. Bibliotečki zavisne metode zahtevaju razvoj biohemijskih (fenotipskih) i molekularnih (genotipskih) profila za bakterijske sojeve izolovane iz izvora za koji se sumnja da je pod

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

DNK direktno iz izvora zagađenja, mada neke metode često zahtevaju prethodno obogaćivanje radi povećanja osetljivosti metode (US EPA, 2005).

U poslednje vreme čine se naponi u pravcu boljeg razumevanja različitih MST metoda kao i koje metode su najkorisnije za identifikaciju izvora i karakterizaciju sliva. Na osnovu desetogodišnjeg iskustva razvoja metoda i brojnih rezultata došlo se do zaključka da nijedna od pojedinačnih metoda nije superiorna.

Stoga se nijedna metoda nije pojavila kao metod izbora za određivanje izvora fekalne kontaminacije u svim vodnim telima. Međutim, koristeći odgovarajuću metodu i odgovarajući indikator, mogu se pronaći i okarakterisati izvori fekalne kontaminacije kao i da li su životinjskog ili ljudskog porekla. MST na osnovu identifikacije specifičnih molekularnih markera mogu pružiti potpuniju sliku o korišćenju zemljišta i o rizicima po životnu sredinu u odnosu na tradicionalne pokazatelje i metode (Jenkins i sar., 2009). MST metode mogu da utvrde „ko“ doprinosi zagađenju, dok tradicionalne odgajivačke metode samo govore „da li“ i „kada“ je prisutna fekalna kontaminacija.

Bakterije koje se koriste u MST istraživanjima: Rod *Bacteroides* predstavlja grupu gram-negativnih, asporogenih, nepokretnih, anaerobnih štapićastih bakterija izolovanih iz gastrointestinalnog trakta ljudi i životinja. Kao članovi autohtone mikrobiološke zajednice, oni imaju različite uloge kojima doprinose normalnoj fiziologiji i funkciji creva. Tu spadaju pre svega korisne uloge poput razgradnje polisaharida ili učešće u procesu kruženja azota. Prema Smith et al. (2006) predstavnici roda *Bacteroides* uzrokuju oportunističke infekcije koje se mogu javiti kada je na bilo koji način narušen integritet sluzokože crevnog zida. Bitan aspekt biologije *Bacteroides* je njegova nesposobnost da se razmnožava u spoljašnjoj sredini kao i njegov potencijal za opstanak u okolnoj sredini koji je direktno proporcionalan dužini opstanka patogena. Opstanak ovih bakterija prvenstveno zavisi od temperature i prisustva predatora, a utvrđeno je da može da preživi do 6 dana u uslovima kiseoničnog stresa (Field and Dick, 2004). Značajna brojnost *Bacteroides* u fecesu ljudi i životinja je omogućila analizu koja ga dovodi u vezu sa domaćinom uzimajući u obzir gene prisutne u genomu ovog roda bakterija. Laiton i sar. (2006) su sugerisali da bakterije koje pripadaju rodu *Bacteroides* mogu biti alternativni fekalni indikator *E. coli* ili fekalnih koliformnih bakterija, jer čine značajan deo populacije fekalnih bakterija. Osim toga pokazuje visok stepen specifičnosti u odnosu na domaćina te na taj način odslikava razlike u digestivnim sistemima životinja. Izrađene su brojne metodologije za traženje specifične dijagnostičke sekvence unutar *Bacteroides* 16S rRNK gena koji je prisutan u fecesu različitih životinja. Field and Dick (2004) razvili su 16S rRNK genske markere iz *Bacteroides*-a za primenu PCR metode za otkrivanje fekalnog zagađenja i razlikovanje humanih i animalnih izvora. Razvoj MST metoda specifičnih za molekularne markere unutar ciljnog gena omogućioće diferencijaciju *Bacteroides* povezanog sa ljudima i sa preživarima, a samim tim identifikovanje mogućeg izvora

10. Mikroorganizmi kao indikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

kontaminacije. Ovakav pristup ima prednost jer zaobilazi kultivaciju i omogućava bržu identifikaciju ciljnog organizma (Scott et al., 2002).

Primena praćenja mikrobnog izvora Jedna od najčešćih primena MST je identifikacija izvora bakterijskih indikatora fekalnog zagađenja u cilju preduzimanja adekvatnih mera kontrole. Tamo gde je pokazano da bakterije indikatori fekalnog zagađenja potiču prvenstveno iz izvora kao što su divlje životinje znači da ih praktično i nije potrebno kontrolisati jer ova vrsta fekalnog zagađenja predstavlja manji rizik za ljudsko zdravlje.

Kao primer primene MST navodimo međunarodno istraživanje Dunava koje je sprovedeno 2016. godine u okviru ekspedicije Joint Danube Survey 3. Od ušća do izvora reke analizirano je ukupno 70 uzoraka. Za praćenje mikrobnih izvora korišćeni su humani fekalni markeri BacHum (Kildare et al., 2007) i izmenjena verzija HF183II (Green i sar., 2014). Oni su određeni pomoću qPCR metode ukazujući na fekalno zagađenje humanog porekla. BacR koji je povezan sa preživarima qPCR test (Reischer et al., 2007) i svinjski Pig2Bac qPCR test (Mieszkin et al., 2010) su uključeni kao metode za otkrivanje životinjskog izvora fekalnog zagađenja.

Sa markerima za praćenje izvora mikroba koji su korišćeni u ovoj studiji, pokazano je da je ljudsko fekalno zagađenje bilo dominantno tokom cele dužine reke Dunav. Humani genetički fekalni markeri Bacteroidetes su bili prisutni u 78% (HF183II) odnosno 96% (BacHum) od ukupnog broja uzoraka. Nedavna studija koja istražuje koncentracije humanih markera u otpadnim vodama i u uzorcima fekalija pokazale su da je marker HF183II nešto manje zastupljen i specifičniji od BacHum u izvorima fekalija. Udruženi humani markeri su pokazali značajnu međusobnu zavisnost i bili u korelaciji sa brojnošću standardnih indikatora fekalnog zagađenja kao što su *E. coli* i enterokoke. Za razliku od toga, preživarski (BacR; (Reischer i sar., 2007)) i svinjski (Pig2- Bac; (Mieszkin et al., 2010)) genetički fekalni markeri su otkriveni u malom broju uzoraka (<10% pozitivnih uzoraka), a srednja koncentracija je bila od jednog do tri reda veličine niža od humanih markera, uprkos činjenici da se uzgoj životinja i pašnjaci javljaju dužinom celog toka Dunava. Obzirom da je uzorkovanje sprovedeno tokom leta sa jako malom količinom padavina uticaj difuznog fekalnog zagađenja animalnog porekla na reku Dunav je bio mali. Još jedan potencijalni izvor životinjskog fekalnog zagađenja koje nije razmotren u ovoj studiji su fekalije divljih i gajenih ptica. U vreme ovih istraživanja nisu postojali opšti markeri za sve vrste ptica, iako su postojali markeri za galebove (Lee et al., 2013), patke (Kobaiashi et al., 2013) i živinu (Riu et al., 2014). Markeri preživara i svinja mogu detektovati fekalno zagađenje i divljih životinja poput jelena i divljih svinja. Oni su bili relativno mali tako da dobijeni rezultati MST ukazuju na skroman doprinos životinja opštem fekalnom zagađenju reke Dunav u ispitivanom periodu.

Literatura

1. KOHL, W. (1975): Über die Bedeutung bakteriologischer Untersuchungen für die Beurteilung von Fließgewässern, dargestellt am Beispiel der österreichischen Donau, Arch, Hydrobiol./ Suppl.44, 4, 392-461.
2. Kavka, G.G., Kasimir, G.D., Farnleitner, A.H., 2006. Microbiological Water Quality of the River Danube (Km 2581 e Km 15): Longitudinal Variation of Pollution as Determined by Standard Parameters. Austrian Committee Danube Research/IAD, Vienna, Austria, pp. 415e421.
3. KAVKA, G. G.& POETSCH, E. (2002): Microbiology. - In: Technical Report of the International Commission for the Protection of the Danube River. Eds. Péter Literáthy, Veronika Koller Kreimel, Igor Liska. Eigenverlag ICPDR. 138-150.
4. Kirschner, A.K.T. , G.H. Reischer, S. Jakwerth, D. Savio, S. Ixenmaier, E. Toth, R. Sommer, R.L. Mach, R. Linke, A. Eiler, S. Kolarevic, A.H. Farnleitner, Multiparametric monitoring of microbial faecal pollution reveals the dominance of human contamination along the whole Danube River, Water Research, Volume 124, 2017, Pages 543-555, ISSN 0043-1354, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.052>
5. A.H. Farnleitner, L. Hocke, C. Beiwl, G.C. Kavka, T. Zechmeister, A.K.T. Kirschner, R.L. Mach (2001): Rapid enzymatic detection of Escherichia coli contamination in polluted river water. Letters in Applied Microbiology. Volume33, Issue3:Pages 246-250. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2001.00990>.

11. ALGE KAO BIOINDIKATORI STANJA I KVALITETA POVRŠINSKIH VODA

Značaj algi kao bioindikatora za slatkovodne ekosisteme prepoznat je još sredinom 19. veka. Prvi pokušaj da se vodeni organizmi iskoriste kao pokazatelji kvaliteta vode vezan je za radove Cohn-a (1870), a kasnije i Mez-a (1898). Vezu između ovih organizama i kvaliteta vode kasnije su još jasnije definisali Kolkvitz i Marsson (1902, 1908, 1909) koji su uveli i naziv „saprobni organizmi“. Sistem saprobnosti, termin koji je predložio Cramek-Hucek (1956), dalje je razvijan i revidiran od strane Kolkvitz-a (1950) i Liebmann-a (1962). S obzirom na to da je u takvom sistemu saprobnost bila definisana kao intenzitet heterotrofne aktivnosti, sve fotoautotrofne vrste su iz njega bile isključene kako bi se izbeglo preklapanje sa trofičkom indikacijom. Kasnije su uvedeni sistemi koji su bili značajno unapređeni i podrazumevali su korišćenje svih članova vodenih zajednica, uključujući i alge, u praćenju kvaliteta vode.

Alge su, kao vitalna grupa organizama u vodenim ekosistemima, važna komponenta biomonitoringa. Pogodne su za procenu kvaliteta vode pre svega zbog njihove potrebe za hranljivih sastojcima, brze reprodukcije i vrlo kratkog životnog ciklusa. Takođe se smatraju pouzdanim pokazateljima stanja jer brzo reaguju promenom sastava vrsta i gustine populacije na širok spektar faktora sredine. Tako na primer, povećanje kiselosti vode usled prisustva supstanci koje stvaraju kiseline, kao i teški metali koji se ispuštaju iz industrijskih područja, utiču na sastav vrsta koji su u stanju da tolerišu ove uslove. Sa aspekta ekologije i javnog zdravlja od primarne je važnosti zastupljenost hranljivih sastojaka koji sadrže azot (N) i fosfor (P) koji dospevaju u površinske vode što na kraju može rezultirati drastičnim razvojem algi i povećanjem nivoa trofičnosti (USEPA). Odnos N: P često određuje koji su rodovi algi dominantni, prisutni ili odsutni u vodenim sredinama. Jezera i rezervoari koji povremeno ili hronično primaju takva zagađenja pokazuju visoku gustinu rasta algi što rezultira pojavom cvetanja i / ili prisustva vrsta producenata toksina. Mikroskopska analiza uzoraka vode određuje raznolikost i gustinu vrsta algi i pruža potencijalno korisne znake ranog upozoravanja na pogoršanje uslova u vodenom ekosistemu.

Kada prisustvo, odsustvo ili obilje vrsta odražava karakter staništa unutar kojeg su detektovane takve vrste se obično identifikuju kao bioindikatorske vrste. Glavni preduslov za to da se alga okarakterise kao relevantan bioindikator, predstavlja poznavanje zahteva tih vrsta prema jednoj ili više promenljivih životne sredine. Prisustvo takvih vrsta u datom staništu u tom slučaju će ukazati na to da se jedan ili više parametara nalaze unutar granice tolerancije te vrste. Ovaj koncept pokazatelja može se proširiti i na druge

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

segmente kao što su prisustvo / odsustvo u odnosu na obilje, biomasa, rast algalnih vrsta pod opštim uticajem životne sredine ili pod određenim stresnim uslovima. Indikatorska vrsta tada postaje „biosenzor“ ili „marker“ za biološki test zagađenja životne sredine. Drugi koncept povezuje indikatorske vrste algi sa organizmima koji akumuliraju supstance iz okoline tako da odražavaju prirodni nivo i izloženost tim supstancama. Takve vrste su „bioakumulatori“ koji mogu biti posebno korisni ukoliko koncentrišu vrlo nizak nivo određene supstance. Alge mogu biti značajni bioindikatori stanja vodenih ekosistema upravo sa tih različitih aspekata. Najkorisnije su međutim kao pokazatelji kvaliteta vode sa aspekta eutrofizacije, ali se koriste i za utvrđivanje opšteg organskog zagađenja zbog visoke tolerancije prema takvim uslovima. Sa druge strane njihov značaj kao bioakumulatora npr. pesticida ili teških metala u vodenoj sredini je ograničen.

Ekotoksikologija je još jedna oblast u kojoj se alge primenjuju kao važni indikatori zagađenja životne sredine. U tom slučaju se organizmi posmatraju kao ključni senzori koji reaguju na bilo koji stres koji utiče na okruženje u kome žive. Fizički, hemijski ili biološki stres, koji je nametnut vodenom sistemu, ispoljava uticaj kako na zdravlje jedinki koje žive u datom ekosistemu tako i na vodeni ekosistem u celini. Zdravlje vodenog ekosistema je narušeno onda kada se prekorači njegova sposobnost da apsorbuje stres. Takvo stanje, odnosno ekološko zdravlje vodenih ekosistema, može biti procenjeno biološkim monitoringom koristeći organizme poput algi kao relevantne dijagnostičke pokazatelje.

11.1. Bioindikacija i biomonitoring u životnoj sredini

U proceni kvaliteta površinskih voda obično se koriste alge koje su planktonske ili su pričvršćene za površinu (perifiton). Pravi planktonski oblici posebno su značajni u monitoringu stagnofilnih voda poput jezera, akumulacija i rezervoara, ali se uspešno mogu primeniti i u slučaju reka koje sporo teku. Sakupljanje ovih organizama pomoću konvencionalnih limnoloških uzorkivača vode je vrlo jednostavno, nezahtevno i jeftino. Perifitonske alge sa druge strane imaju ključni značaj u monitoringu tekućih voda, naročito brzotekućih reka. Takve alge se mogu sakupiti na terenu struganjem, grebanjem ili četkanjem određenih područja u cilju njihove kvantifikacije. Upotreba perifitonskih algi u proceni kvaliteta vode može biti ograničena nedostatkom objekata za njihovo pričvršćivanje, što se može prevazići primenom različitih vrsta veštačkih podloga (poput npr. predmetnog stakla).

11.2. Opšti pokazatelji trofičnosti slatkovodnih ekosistema

U proceni trofičnosti slatkovodnih ekosistema se najčešće koriste opšti parametri kao što su biomasa primarnih producenata, indeks trofičnosti i indeks saprobnosti.

11.2.1. Koncentracija hlorofila a –biomasa primarnih producenata

Vodeni ekosistemi se odlikuju prisustvom organske i neorganske materije koje u njih dospevaju prirodnim putem (eutrofizacija) ili u rezultatu antropogenog delovanja (saprobnost). Trofičnost se najčešće definiše kao prirodno svojstvo vodenih ekosistema koje zavisi od intenziteta prometa materije i energije, odnosno od visine primarne organske produkcije (procesa fotosinteze). Eutrofizacija je prirodni proces postepenog povećavanja količine organske materije u vodi, pri čemu to povećanje može da bude i usled spiranja organskih komponenata i neorganskih soli sa okolnog sliva što utiče na povećanu bioprodukciju vodenog ekosistema. Saprobnost vodenog ekosistema je pojava ubrzanog procesa eutrofizacije kao posledica dodatnog organskog alohtonog opterećenja, znatno većeg od prirodnog (organska materija namenjena reducentima). Sa porastom trofičnosti vode menja se kvantitativni i kvalitativni sastav mikrobnih, biljnih i životinjskih zajednica, zbog čega se i analiziraju kao pokazatelji procesa eutrofizacije.

Najpouzdaniji i najtačniji merljivi kriterijum za procenu stepena trofičnosti vode se odnosi na intenzitet fotosinteze algi, a samim tim i njihove biomase. Zbog toga je jedan od najznačajnijih pokazatelja stepena trofičnosti, kao i pojave i brzine procesa eutrofizacije, koncentracija hlorofila a. Ovaj pigment je univerzalno prisutan kod svih algi i u direktnoj vezi sa masom algalnih ćelija, zbog čega se i koristi kao validan pokazatelj. Prokariotske modrozeleno alge imaju samo hlorofil a, dok ostale alge pored hlorofila a imaju i još jedan od ostala tri (b, c, d). Sadržaj hlorofila u ćeliji može da bude različit što zavisi od vrste alge i brojnih spoljašnjih faktora sredine i on se kreće u proseku od 0,3 do 3,9% od suve ćelijske biomase. Međutim, pravi raspon u prirodnim uslovima može biti širi od navedenog. U mnogim slučajevima se uzima opšta aproksimacija od 1% od suve biomase algi ili 2% od ćelijskog sadržaja ugljenika. To znači da se merenjem koncentracije hlorofila a može približno izračunati biomasa algi kao primarnih producenata u vodenom ekosistemu, čime se utvrđuje nivo organske produkcije odnosno stepen trofije ispitivanog vodenog tela.

Iz literature je poznat veći broj sistema klasifikacije koji za karakterizaciju trofičnosti uzimaju u obzir koncentraciju hlorofila a ($\mu\text{g/l}$) kao što su klasifikacije po Felföldy (1987) i Schmitt (1998). Tu su svakako i predlozi kao što je trofički indeks po Karlsonu (Carlson, 1977), OECD (1982) klasifikacija koje su inkorporirane u brojne Uredbe i Pravilnike poput Uredbe koja je aktuelna u Republici Srpskoj i Pravilnik o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda (Službeni list Republike Srbije, 2011) koji je aktuelan u Republici Srbiji.

Na osnovu količine hranljivih materija i intenziteta primarne produkcije vode su grubo mogu podeliti na: oligotrofne (slabo produktivne i siromašne hranljivim materijama),

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

eutrofne (vrlo produktivne i bogate hranljivim materijama) i distrofne (slabo produktivne, siromašne i odumiruće vode).

Najčešći metod određivanja koncentracije hlorofila "a" sa procenom trofičnosti sistema i klasifikacija voda na osnovu Felföldy (1987) i na osnovu OECD sistema (Organization for Economic Cooperation and Development) (1982) podrazumeva spektrofotometrijsko određivanje sadržaja hlorofila a u vodenom uzorku pri čemu se koncentracija hlorofila a (APHA, 1995) izračunava prema formuli:

$$\text{Hlorofil-a (mg/m}^3\text{)} = (26.7 * ((664 - 750) \text{ pre} - (665 - 750) \text{ posle}) * V_1)$$

$$V_2 * L$$

V_1 = zapremina ekstrakta ,l,

V_2 = zapremina uzorka, m³,

L = širina kivete spektrofotometra (u cm)

664 pre i 665 posle = OD ekstrakta pre i posle zakišeljavanja

750 = OD za zamućenje

26.7 = korekcija apsorbance koja zavisi od apsorpcionog koeficijenta hlorofila-a na 664 nm

Na osnovu koncentracije hlorofila a stepen trofičnosti vodenog ekosistema je moguće odrediti prema kategorizaciji Felföldy (1987) koja podrazumeva 10 kategorija vode, od oligotrofične do hipertrofične (Tabela 1).

Tabela 50 Kategorizacija voda na osnovu hlorofila a (Felföldy, 1987)

Stepen trofičnosti	Koncentracija hl a (mg/m ³)
0 atrofičan	0
1 ultra-oligotrofičan	< 1
2 oligotrofičan	1-3
3 oligo-mezotrofičan	3-10

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

4 mezotrofičan	10-20
5 mezo-eutrofičan	20-50
6 eutrofičan	50-100
7 eu-politrofičan	100-200
8 politrofičan	200-800
9 hipertrofičan	> 800

Koncentracija hlorofila *a* se može odrediti i *in situ* primenom specifičnih senzora za detekciju.

11.2.2 Indeks trofičnosti

Pored hlorofila *a* kao parametra u proceni trofičnosti vode, moguće je koristiti i indekse trofičnosti koji uključuju pored koncentracije ovog pigmenta i dodatne parametre kao što su providnost, azot i fosfor.

Jedan od najčešće korišćenih je Karlsonov indeks trofičnosti koji podrazumeva izračunavanje bazirano na tri osnovna parametra: providnost izmerena seki diskom (TSI(SD)), koncentracija hlorofila *a* kao odraz biomase planktonskih algi (TSI(CHL)) i koncentracija ukupnog fosfora (TSI(TP)). Na osnovu ovih merenja izračunavaju se TSI indeksi za svaki parametar prema datim jednačinama:

1. $TSI(SD) = 60 - 14.41 \ln(SD)$,
2. $TSI(CHL) = 9.81 \ln(CHL) + 30.6$
3. i $TSI(TP) = 14.42 \ln(TP) + 4.15$ (Carlson 1977, Carlson i Simpson 1996)

Prilikom izračunavanja vrednosti, providnost (SD) mora biti izražena u metrima, koncentracija hlorofila *a* (CHL) u $\mu\text{g/l}$, a koncentracija ukupnog fosfora (TP) u mg/m^3 .

Indeks trofičnosti (TSI) može da se bazira i na koncentraciji hlorofila *a* (CHLa), nivou ukupnog azota (TSI (TN)) i nivou ukupnog fosfora (TSI (TP)) u vodi:

1. $TSI_{(CHLa)} = 16,8 + 14,4 \times \ln \text{chl } a$
2. $TSI_{(TP)} = 18,6 \times [\ln (TP \times 1000)] - 18,4$
3. $TSI_{(TN)} = 56 + 19 \times \ln TN$
4. $TSI_2_{(TP)} = 10 \times [2,36 \times \ln (TP \times 1000) - 2,38]$
5. $TSI_2_{(TN)} = 10 \times [5,96 + 2,15 \times \ln (TN + 0,001)]$

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

a. Za jezera sa izbalansiranim odnosom azota i fosfora ($10 \leq \text{TN/TP} \leq 30$) može se primeniti sledeća formula:

- $\text{TSI} = (\text{TSI}_{(\text{CHLa})} + [\text{TSI}_{(\text{TN})} + \text{TSI}_{(\text{TP})}] / 2) / 2$

b. Za jezera sa ograničenim sadržajem fosfora ($\text{TN/TP} > 30$) primenjuje se formula:

$$\text{TSI} = [\text{TSI}_{(\text{CHLa})} + \text{TSI}_{2(\text{TP})}] / 2$$

c. Za jezera sa ograničenim sadržajem azota ($\text{TN/TP} < 10$) formula je:

-

$$\text{TSI} = [\text{TSI}_{(\text{CHLa})} + \text{TSI}_{2(\text{TN})}] / 2$$

Na osnovu indeksa trofičnosti, vodeni ekosistemi se kategorišu u tri stepena trofije – od oligotrofičnih do hipertrofičnih (Tabela 2).

Tabela 51 Klasifikacija vode na osnovu indeksa trofičnosti

Indeks trofičnosti	Klasifikacija trofičnog stanja	Kvalitet vode
0-59	Oligotrofičan do srednje-eutrofičan	Dobar
60-69	Srednje eutrofičan do eutrofičan	Slab
70-100	Hipereutrofičan	Loš

11.2.3 Saprobiološki pokazatelji kvaliteta vode

- Trofički stupanj nekog vodenog ekosistema može se utvrditi ispitivanjem kvalitativnog i kvantitativnog sastava planktona, zooplanktona i faune dna. Fito i zooplankton su veoma osetljivi na promene karakteristika vodenog ekosistema. Pojavljivanje i učestalost ovih mikroorganizama značajan je biološki pokazatelj pre svega stanja organske opterećenosti vode. Metode analize planktona u vodi u cilju određivanja njenog kvaliteta nazivaju se saprobiološke metode. Postoji veći broj saprobioloških metoda koje su bazirane na utvrđivanju kvaliteta vode na osnovu diverziteta fitoplanktonskih vrsta i njihove zastupljenosti odnosno abundance, od kojih su najpoznatije metode po Kolwitz i Marson-u (1902, 1908, 1909), po Liebman-u, H (1962) i najčešće primenjivana saprobiološka analiza po Pantle, Back-u (1955), koja podrazumeva sledeće korake:

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

- Standardne metode uzimanja uzoraka vode;
- Determinacija fito i zooplanktona u uzorku vode uz određivanje relativne učestalosti (u) svake pojedine vrste upotrebom brojeva 1, 3, 5;
- Vrednost relativne učestalosti 5: masovna pojava vrste, dominantna vrsta koja predstavlja indikatorsku vrstu saprobnog stanja ispitivanog ekosistema;
- Relativna učestalost 3: vrste se ređe javljaju, ali dovoljno često da okarakterišu stepen zagađenja-subdominantne vrste;
- Relativna učestalost 1: retko prisutne vrste;
- Svakoj vrsti se još pripisuje indikatorska tablična vrednost (s) iz tablica (SEV,1977) i ove vrednosti se kreću od 1 do 4;

Na osnovu navedenih vrednosti (u i s) izračunava se indeksa saprobnosti (S) po sledećoj formuli:

$$S = \frac{\sum s * u}{\sum u}$$

$$\sum u$$

Prema vrednostima S određuje se stepen saprobnosti vode:

I S od 1-1,5 : oligosaprobnost stepen saprobnosti vode

II S od 1,5 – 2,5 : beta-mezosaprobnost stepen

III S od 2,5 – 3,5 : alfa-mezosaprobnost stepen

IV S od 3,5 – 4 : polisaprobnost stepen

Oligosaprobnost stepenu ukazuje na vrlo slabo zagađenu ili čistu vodu, koja je uglavnom karakteristična za planinske potoke i jezera. U ovom tipu voda, organska materija je potpuno oksidovana a mulj mineralizovan, zbog čega je voda bistra, bez mirisa, sa visokim sadržajem rastvorenog kiseonika. Takvi uslovi su izuzetno povoljni za razvoj bogatog živog sveta zbog čega se javlja veliki broj vrsta sa malim brojem individua. Neke vrste algi koji se bioindikatorske za ovaj tip voda su: *Cyclotella compta*, *Meridion aciculare*, *Staurastrum gracile*, *Ulothrix zonata*, *Cladophora glomerata* i dr.

Beta-mezosaprobnost stepen odlikuje umereno zagađena voda koja je karakteristična za velika prirodna jezera, reke u srednjim i donjim tokovima koje nisu pod direktnim antropogenim uticajem. U takvoj vodi se završavaju redukcioni procesi razgradnje i uspostavlja se aerobno stanje. Voda poprima zelenu boju zbog razvoja fitoplanktona, a miris nije neprijatan zbog nestanka produkata razgradnje, amonijaka i sumporvodonika. Proces mineralizacije je napredovao čime se stvaraju uslovi za razvoj algi, biljaka i

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

životinja. Specifični predstavnici algi ovog tipa voda su: *Melosira granulata*, *M. varians*, *microcystis flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae*, *Synedra ulna*, *Asterionella formosa*, *Navicula cuspidata*, *Tabellaria fenestrata* i dr.

Alfa-mezosaprobna voda se odlikuje izraženim organskim zagađenjem, kao što su kanali za navodnjavanje, ustajale vode i reke u urbanim područjima. Za ovaj tip voda su karakteristični intenzivni procesi razgradnje aminokiselina uz produkciju sumporvodonika, amonijaka i ugljen-dioksida, zbog čega voda ima neprijatan miris, mutna je i sa malom količinom rastvorenog kiseonika. Najčešći dominantni predstavnici algi koji se javljaju u ovom tipu voda su: *Closterium acerosum*, *Oscillatoria Formosa*, *Navicula cryptocephala*, *Nitzschia palea* i dr.

Polisaprobni stepen ukazuje na izrazito zagađenu i vodu opterećenu u velikoj meri organskim materijama, što je obično karakteristika recipijenata organskih zagađivača. Takva voda se odlikuje intenzivnim procesima razgradnje organskih materija zbog čega se javlja nedostatak rastvorenog kiseonika. Produkti razgradnje poput sumporvodonika, amonijaka, metana i ugljendioksida uslovljavaju neprijatan miris vode. Boja može da bude siva ili da varira u zavisnosti od dominirajuće grupe bakterija koje učestvuju u procesima razgradnje. Voda ovog tipa nema izražen diverzitet, već je broj vrsta vrlo mali ali je broj individua u okviru njih jako velik. Indikativne alge ovog tipa voda su: *Euglena viridis*, *E. acus*, *E. proxima*, *E. gracilis*, *Oscillatoria chlorine*, *Spirullina jenneri* i dr.

11.3. Specifični pokazatelji kvaliteta vode

Osim najčešće primenjivanih opštih pokazatelja, i za tekuće i za stajaće vode postoje specifičniji parametri praćenja kvaliteta vode.

11.3.1. Reke

Koncept saprobnosti za rečne sisteme je ranije obuhvatao i autotrofne i heterotrofne organizme, zbog čega je bilo definisano i korišćeno nekoliko indeksa za obe ove indikatorske grupe. Kako su u rekama problemi trofičnosti postali sve izraženiji, tako su se i uvodili novi specifičniji trofički bioindeksi. Trofička klasifikacija reka na osnovu strukture fitoplanktona i perifitona i njihovog obilja je sada uključeno i u Okvirnu direktivu o vodama EZ (2000).

U slučaju rečnih sistema upotreba bentosnih algi za klasifikaciju ima prilično dugu tradiciju i u mnogim evropskim zemljama se kao specijalna grupa pogodnih indikatora koriste silikatne alge (Bacillariophyta), dok je fitoplankton u velikoj meri zanemaren. Sasvim suprotna situacija je u slučaju stajaćih voda poput jezerima.

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

11.3.1.1. Fitoplankton

Dugoročne promene u rekama je relativno lako otkriti kontinuiranim praćenjem biocenoze planktona, međutim još uvek ne postoje standardni protokoli za takav vid monitoringa. Značaj rečnog planktona za bioindikaciju može biti otežan zbog širokog opsega ekološke tolerancije većine vrsta. U rečnim planktonskim zajednicama najčešće dominiraju dijatomeje, dok se zelene alge, cijanobakterije i kriptomonade obično pojavljuju samo u određenim periodima godine. Pri smanjenom protoku vode stopa rasta pojedinih grupa kao što su cijanobakterije, može da se poveća tako da ponekad dolazi do kratkotrajnog cvetanja usled povoljnih uslova osvetljenja i manje turbulencije. Planktonska populacija u rekama je daleko manje raznolika od one koja se javlja u jezerima i često se odlikuje dominacijom centričnih dijatomeja. Vrste koji bi se mogli između ostalog koristiti kao adekvatni indikatori su *Aulacoseira granulata*, *Actinociclus normanii*, *Stephanodiscus neoastrea*, *Ciclotella meneghiniana*. Parametri koji se koriste za karakterizaciju trofičnosti reka sa dominacijom fitoplanktonskih vrsta podrazumevaju parametre kao što su 90 percentili koncentracije hlorofila-a i primarnu produkciju. Primer jedne takve opšta klasifikacija trofičnosti reka prikazan je u Tabeli 3, pri čemu se maksimalne i prosečne vrednosti mogu se koristiti kao dodatni kriterijumi. Opseg koji je dat ukazuju na promenljiv sadržaj hlorofila u biomasi algi u skladu sa promenljivim sastavom algi koji se prema Behrendt i Opitz (1996) povećava od Bacillariophyta (dijatomeje), do cijanobakterija (Cyanoprokariota) i Chlorophyta (zelene alge).

Tabela 52 Kriterijumi za klasifikaciju trofičnosti reka sa dominacijom fitoplanktonskih vrsta (modifikovano Schmitt, 1998)

Stepen trofičnosti	Primarna produkcija	Hlorofil a 90 percentili (μgL^{-1})	Hlorofil a prosečna vrednost
I Oligotrofan	Veoma niska	3-8	<1-4
I-II Mezotrofan	Niska do umerena	8-30	3-8
II Eutrofan	Umerena	20-100	7-30
II-III Eu-politrofan	Umerena do visoka	70-150	25-50
III Politrofan	Visoka	120-250	50-100
III-IV Poli-saprotrofan	Veoma visoka	200-400	>100
V Saprotrofan	Ekstremno visoka		>400

Sličan trofički sistem, koji uključuje brojnost algi i primarnu produkciju, objavio je Felföldy (1987) za mađarske reke i jezera (Tabela 4). Ovaj sistem objedinjuje kategorizaciju

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

trofičnosti za sve tipove površinskih voda a bazira se na brojnosti algalnih ćelija, koncentraciji hlorofila a i primarnoj produkciji.

Tabela 53 Parametri za karakterizaciju trofičnosti u rekama i jezerima (modifikacija Felföldy, 1987)

Stepen trofičnosti	Brojnost algalnih ćelija [10^6 ćelija $^{-1}$]	Hlorofil a (μgL^{-1})	Primarna produkcija [$\text{mg C m}^{-2} \text{d}^{-1}$]	Primarna produkcija [$\text{g C m}^{-2} \text{a}^{-1}$]
1 Ultra- oligotrofičan	<0,01	<1	<5	<10
2 Oligotrofičan	0,01-0,05	1-3	10-125	10-25
3 Oligo- mezotrofičan	0,05-0,1	3-10	125-250	25-50
4 Mezotrofičan	0,1-0,5	10-20	250-500	50-100
5 Mezo-eutrofičan	0,5-1	20-50	500-900	100-175
6 Eutrofičan	1-10	50-100	900-1500	175-300
7 Eu-politrofičan	10-100	100-200	1500-2500	300-500
8 Politrofičan	100-500	200-800	2500-4000	500-800
9 Hipertrofan	>500	>800	>4000	>800

11.3.1.2. *Fitobentos*

Za razliku od planktonskih vrsta, sistem praćenja perifitonskih algi u tekućim vodama je zahtevniji, jer se one ubikvitarno pojavljuju, tako da se mogu naći od čistih izvora do visoko zagađenih delova reka. Procena mikroskopskog perifitona vrši se nakon struganja sa prirodnog staništa ili se u cilju formiranja obraštaja koriste veštačke podloge poput staklenih predmetnica, stiropora, pločica pleksiglasa. Prisustvo bilo koje vrste čije su ekološke granice dobro poznate moguće je koristiti kao indikatorsko. Zdrav rast vrste je često mnogo bolji pokazatelj stanja u odnosu na samo njeno prisustvo. Tako se na primer *Cladophora glomerata* pojavljuje u gotovo svim potocima, ali se bujan rast može naći samo u uslovima visokog nivoa hranljivih materija. Postoji nekoliko različitih lista sa pojedinačnim vrstama koje se koriste u skladu sa njihovom reakcijom na različite vrste zagađenja ili zagađivača u rečnim sredinama (Rott i sar., 1997, 1999).

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

Dijatomeje su kao što je već naglašeno jedne od najznačajnijih grupa u proceni kvaliteta tekućih voda, s obzirom na to da su dostupni brojni podaci o toleranciji pojedinih vrsta prema određenim faktorima životne sredine. Zbog toga se one, pored saprobne i trofičke indikacije, koriste i za mnoge druge indikacije kao što su slanost, kiselost, pH-vrednost, koncentracija Al, količina rastvorenog organskog ugljenika (DOC) i huminskih supstanci. U paleolimnologiji, temperatura vode, vrednosti pH ili koncentracija fosfora u prošlosti rekonstruišu se analizom pancira dijatomeja pronađenih u sedimentima. Kontinuirano dugotrajno praćenje reka koristeći dijatomeje kao bioindikatore jasno je pokazalo da ove alge dobro odražavaju poremećaje u ekosistemu kao što su povećanje zagađenja, izgradnja brana ili male količine toksičnih zagađenja.

Brojne studije su dovele do formulisanja različitih indeksa za različite grupe algi i posebno su brojni oni koji se odnose na dijatomeje. Neki od nedavno utvrđenih dijatomejskih indeksa zasnovani su na eksperimentalnim istraživanjima (poput onih Reimann-a i Hamm-a (1996)), u kojima su uporedo analizirane perifitonske silikatne alge na veštačkim podlogama i u laboratorijskim uslovima. Na osnovu koncepta različitih vrsta i intenzivnih terenskih istraživanja u Nemačkoj, Schiefele i Kohmann (1993) su razvili ponderisani dijatomejskog indeks trofičnosti (TDI):

$$TDI_{ss} = \frac{\sum_{i=1}^n Y_i \times TDi \times Wi}{\sum_{i=1}^n Y_i \times Wi}$$

gde je TDI_{ss} = dijatomejski indeks trofičnosti za mesto uzorkovanja (SS)

Y_i = relativna abundanca vrsta $i = 1$ do n na mestu uzorkovanja

TDi = Indeks zasnovan ili samo na fosforu ili na fosforu i azotu za vrste 1 do n

W_i = težina $i = 1$ do n za vrste 1 do n

Ova formula je matematički ekvivalentna indeksu saprobnosti Pantle - Buck (1955).

Dijatomejski indeks trofičnosti (TDI) ukazuje na trofičnost potoka i reka kroz sedam nivoa sličnih saprobnom sistemu (Tabela 5). Značaj TDI indeksa se uglavnom reflektuje kroz adekvatnije klasifikovanje opterećenja hranljivim materijama u odnosu na neke najčešće korišćene saprobne indekse. TDI se najbolje primenjuje na neutralne ili blago alkalne, mezo- i hipertrofične vode.

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

Tabela 54 Odnos nivoa trofičnosti i dijatomejskog indeksa trofičnosti (TDI), uslova trofičnosti i opterećenje nutrijentima (modifikovano Schiefele and Kohmann, 1993)

Nivo trofičnosti	TDI	Trofički uslovi	Opterećenje nutrijentima
1	1,0-1,4	Oligotrofni (o)	Prirodno
1,5	1,5-1,8	Oligo-mezotrofni (om)	Nisko
2	1,9-2,2	Mezotrofni (m)	Umereno
2,5	2,3-2,7	Mezo-eutrofni (me)	Kritično
3	2,8-3,1	Eutrofni (e)	Signifikantno
3,5	3,2-3,5	Eu-hipertrofni (eh)	Visoko
4	3,6-4,0	Hipertrofni (h)	Veoma visoko

Pored ovog indeksa, veći broj autora je pokušao da definiše važnost strukture zajednice dijatomeja sa određenim diferencijalnim konceptima (Lange-Bertalot, 1978, 1979; Schiefele, 1987; Steinberg i Schiefele, 1988). Ovi autori su definisali pet različitih grupa za različite nivoe tolerancije prema zagađenju i dve grupe koje opisuju uslove opterećenja hranljivim materijama:

- najtolerantnije vrste (mt) koje se razmnožavaju čak i u polisaprobnim oblastima
- visoko tolerantne vrste (ht) koje se javljaju do α -mezo-polisaprobnog nivoa
- tolerantne vrste (t) koje tolerišu α -mezo-saprobne uslove
- osetljive vrste koje su osetljive na zagađenje, ali koje tolerišu β -mezosaprobne do α -mezo-saprobne uslove
- visoko osetljive vrste (hs) koje izbegavaju saprobnost veću od β -mezo-saprobnih
- oligotrafentične vrste (ol) koje ukazuju na niske koncentracije hranljivih sastojaka
- eutrafentične vrste (eu) koje preferiraju visok nivo hranljivih materija.

Koristeći ovaj sistem, tekuće vode se mogu klasifikovati u četiri nivoa trofičnosti i tri klase zagađenja na osnovu relativnog obilja vrsta dijatomeja prema datoj šemi u Tabeli 6.

Tabela 55 Bioindikacija trofičnosti i zagađenja prema sistemu različitih vrsta dijatomeja (Steinberg i Schiefele, 1988)

Relativna abudanca diferenciranih grupa algi

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

Nivo trofičnosti

I	ol ≥ 50%	hs ≥ 10%	eu < 10%	t+ht+mt+s < 10
II	ol ≥ 10%	hs ≥ 10%	eu < 50%	t+ht+mt+s < 10
III	ol < 10%	hs ≥ 10%	eu ≥ 50%	t+ht+mt+s < 10
IV	ol < 10	hs < 10%	eu ≥ 50%	t+ht+mt+s < 10

Klasa zagađenja

1	ol+hs < 10%	eu < 50%	t+ht+mt+s ≥ 10%
2	ol+hs < 10%	eu < 50%	t+ht+mt+s ≥ 50%
3	ol+hs < 10%	eu < 10%	t+ht+mt+s ≥ 50%

ol = oligotrofne vrste, eu = eutrofne vrste, hs = visoko osetljive vrste, s = osetljive vrste, t = tolerantne vrste, ht = visoko tolerantne vrste, mt = najtolerantnije vrste.

Osim dijatomeja i druge pričvršćene alge mogu biti značajni pokazatelji stanja u tekućim vodama. Tako su na primer makroskopske i mikroskopske sesilne zelene alge najčešće vrste prisutne u rekama tokom leta. U vezi sa Direktivom EZ koja se odnosi na ekološki status voda, mnoge zemlje razvijaju protokole, standarde i spiskove indikatorskih vrsta za procenu kvaliteta rečne vode. Tako su Rott i sar. (1999) predložili određene indekse saprobnosti i trofičnosti, od kojih su najznačajniji indeksi trofičnosti zasnovani ili na svim klasama algi ili isključivo na dijatomejima. Matematički posmatrano ovaj indeks je vrlo sličan indeksu trofičnosti Schiefele - Kohmann (1993):

$$TI = \frac{\sum_{i=1}^n TW_i G_i H_i}{\sum_{i=1}^n G_i H_i}$$

TI = indeks trofičnosti svih grupa algi ili samo dijatomeja (TI_{DIA})

TW_i = trofička vrednost vrste *i* (tabelarno u Rott i sar., 1999)

G_i = težina dodeljena vrsti *i* (tabelarno u Rott et al., 1999)

H_i = relativna abundanca vrste *i* u %

Biotički integritet reka se procenjuje i novijim indeksom biološkog integriteta (PIBI) koji je razvijen na bazi zajednica perifitona koristeći široku lepezu parametara kao što su: bogatstvo rodova algi, relativno bogatstvo dijatomeja, razne vrste acidofilnih, eutrafetnih ili pokretnih dominantnih rodova dijatomeja, cijanobakterija, zatim koncentracije hlorofila, suva biomase i sl. (Hill et al., 2000).

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

U određenim slučajevima se može koristiti i biomasa po jedinici površine ili odnosi različitih komponenata kao pokazatelji kvaliteta vode. Tako su na primer, Veber i McFarland (1969) predložili indeks odnosa suve mase perifitona i njihovog sadržaju hlorofila-a, oba parametra izražena u $g\ m^{-2}$. Ovaj indeks bi trebalo da bude veći u zagađenim područjima koja sadrže veći udeo heterotrofnih organizama.

Odgovor procesa fotosinteze i disanja na faktore sredine kao što su obogaćivanje hranljivim materijama ili prisustvo zagađivača se može takođe koristiti za procenu kvaliteta vode. Takav odnos P / R koji je < 1 u septičkim zonama, brzo se povećava i dostiže vrednosti > 1 u zoni oporavka, dok se dalje nizvodno odnos P / R približava jedinici.

11.3.2. Jezera i rezervoari

Nekoliko različitih indeksa i vrsta indikatora, koji su bazirani na fitoplanktonu, predloženi su za klasifikaciju trofičnosti stajaćih voda tipa jezera i rezervoara. U nekim slučajevima se koriste i razlike na višim taksonomskim nivoima (grupe algi) za karakterizaciju nivoa trofičnosti stajaćih voda.

11.3.2.1. Fitoplankton

A) Indeksi koji koriste čitave grupe algi

- Hlorokokalno – desmidijalni količnik (Thunmark, 1945)

U slučaju ovog indeksa trofički nivo se određuje odnosom broja vrsta dve grupe zelenih algi pronađenih u uzorku prema formuli:

$Q = \text{broj hlorokokalnih vrsta}$

$\text{broj desmidijalnih vrsta}$

Oligotrofna jezera imaju vrednosti < 1 , obično između 0,2 i 0,7; eutrofne vode karakteriše $Q \geq 1(1-3)$; hipertrofna jezera mogu dostići vrednosti čak 14. Drugi autori ukazuju na veliku varijabilnost pri primeni ovog indeksa.

- Količnici algi prema Nigaardu (1949)

Pored Thunmark-ovog indeksa, postoje i Nigaard-ovi količnici koji su definisani na osnovu različitih grupa algi:

a) Količnik Myxophyceae = Myxophyceae

Desmidiales

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

b) Dijatomejski količnik = Centrales

Pennales

c) Količnik Euglenophyceae = Euglenophyceae

Myxophyceae-hlorokokalne zelene alge

d) Složeni indeks = Myxophyceae-Clorococcales+Centrales-
Euglenophyceae

Desmidiiales

Karakteristične vrednosti trofičkih nivoa u ovom slučaju su date u tabeli 7.

Tabela 56 Trofiki nivoi na osnovu složenog indeksa

Vrednost složenog indeksa	Tip jezera
0-0,3	Distrofni
<1	Oligotrofni
1-2	Mezotrofni
3-5	Eutrofni
5-20	Hipertrofični
10-43	Politrophic

Pored gore navedenih, prema Jarnefelt i sar. (1963) postoje i količnici definisani na nivou tipova vrsta kao što su E/ O i EV/ EO. Ovi indeksi (odnos eutrafitičnih i oligotrafentičnih vrsta (E:O) i odnos ukupne biomase eutrafitičnih vrsta i biomase oligotrafentičnih vrsta (EV: OV)):

$E/O = \text{Broj eutrafitičnih vrsta} / \text{Broj oligotrafentičnih vrsta}$

$EV/OV = \text{Ukupna biomasa eutrafitičnih vrsta} / \text{Ukupna biomasa oligotrafentičnih vrsta}$

Prema Heinonen-u (1980), indeks E / O više odgovara višim trofičkim nivoima dok je količnik zasnovan na biomasi veoma promenljiv i njegova primena je ograničena zbog malog broja oligotrafentičnih indikatorskih vrsta.

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

- Količnik algi prema Stockneru (1971)

Ovaj indeks se zasniva na odnosu dve grupe dijatomejskih algi Araphidineae / Centrales. Autor je predložio sledeću klasifikaciju jezera na osnovu datog indeksa (Tabela 8):

Tabela 57 Klasifikaciju jezera na osnovu odnosa Araphidineae / Centrales

A/C odnos	Tip jezera
0,0-1,0	Oligotrofno
1,0-2,0	Mezotrofno
>2,0	Eutrofno

B) Klasifikacija zasnovana na indikatorskim vrstama

U klasifikaciji vode jezera se osim čitavih grupa mogu koristiti i pojedinačne indikatorske vrste algi. Preduslov za definisanje takvih pokazatelja je dobro poznavanje specifične taksonomije algalnih vrsta i njihovih zahteva prema faktorima spoljašnje sredine.

- Indikativne vrste prema Thunmark (1945), Nigaard (1949), Jarnefelt (1952) ili Teiling (1955)

Svi navedeni autori su predložili različite liste vrsta algi koje su indikativne, indiferentne ili nemaju važnost specifičnog indikatora trofičnog stanja jezera. Ovi pristupi su od ograničenog regionalnog značaja, jer većina informacija potiče iz vodenih ekosistema skandinavskih zemalja.

- Kvalitativna karakterizacija prema Heinonenu (1980)

Ova klasifikacija se zasniva na kvalitativnim analizama fitoplanktona i na diferencijaciji jezera na osnovu njihove ukupne biomase. Jezera sa biomasom koja se kreće od 0,01–0,50 mg /1 se smatraju oligotrofnim, a oni sa biomasom > 2,5 mg /1 se označavaju kao eutrofna.

- Indeks trofičnog jezera (Hornstrom, 1981)

Hornstrom pretpostavlja da sastav fitoplanktona sporije reaguje na promene trofičnih uslova (> 1 godina), dok ukupna biomasa bolje odražava stanje ukupne količine hranljivih materija. Na osnovu takvih razmatranja, definisao je Indeks trofičnosti jezera (IL) koji se izračunava prema formuli:

$$I_L = \sum (f \times l_s)$$

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

$$\Sigma f$$

Is= indeks trofičnosti vrste (kreće se u opsegu 0-100)

f = frekvencija kao log biovolumena u $\mu\text{m}^3\text{ml}^{-1}$ (modifikovano Tremel, 1996)

Indikatorska valenca jedne vrste algi, koja se kreće sa porastom trofičnog stanja u rasponu od 0 do 100, procenjuje se iz izračunavanja srednje biomase za sva jezera u kojima se data vrsta javlja u odnosu na najvišu srednju zabeleženu vrednost.

- Bioindikatorske alge i trofični indeks po Brettum-u (1989)

Sistem koji koristi Brettum predstavlja proširen i unapređen model koji je ranije razvio Hornstrom (1981). U ovom sistemu je više od 120 vrsta povezano sa sedam trofičnih kategorija (ultra-oligotrofni do hiper-eutrofni) prema verovatnoći njihovog najvećeg pojavljivanja a koje se izračunava iz formule:

$$p = \frac{n_i \times V_i}{N_i}$$

$$N_i$$

gde je N_i = ukupan broj vrsta algi u okviru trofične klase

n_i = broj određene vrste (i) po grupi

V_i = procentualni doprinos vrste i ukupnom biovolumenu

Ove vrednosti su normalizovane na interval u kojem vrsta najviše doprinosi (= 100) što rezultira numeričkom raspodelom svih vrsta u sedam trofičkih klasa koji su sažeti u Brettumovoj studiji. Ukupni indeks se izračunava od pojedinačnih indeksa vrsta:

$$I_T = \frac{\Sigma (v_i \cdot i_{iT})}{\Sigma v_i}$$

$$\Sigma v_i$$

gde je I_T = indeks za trofični nivo T

v_i = ukupan biovolumen vrste i

i_{iT} = vrednost indeksa vrste i za trofičnu kategoriju T

11. Alge kao bioindikatori stanja i kvaliteta površinskih voda

Prednost ovog indeksa je u tome što koristi zapremine, a ne relativne količine.

- Indeksi biodiverziteta vrsta

Indeksi biodiverziteta vrsta mogu da posluže kao dobri indikatori zagađenja vode. Biodiverzitet vrsta unutar grupe organizama može biti određen numerički u odnosu na različite parametre (označene kao važnosti) uključujući biomasu, produktivnost i brojnost organizama. Većina procena raznolikosti vrsta podrazumeva određivanje broja vrsta, koji se mogu koristiti za generisanje različitih bioindegksa poput indeksa bogatstva vrsta (Margalef-ov indeks), ravnornost/dominacija vrsta (Simpson-ov indeks) i kombinovanog indeksa biodiverziteta (Shannon-Wiener-ov indeks).

Indeksi bogatstva vrsta se odnose na ukupan broj vrsta prisutan u uzorku populacije - što je veći broj vrsta veća je mera biološke raznolikosti i bolji je trofički status vode. Bogatstvo vrsta može se proceniti na dva sledeća načina:

1. Ukupan broj vrsta (S)

Bogatstvo vrsta često se određuje jednostavno u odnosu na ukupan broj detektovnih vrsta. Glavni problem kod ovog indeksa je što vrednost (S) može da zavisi od veličine uzorka - što je veći uzorak, verovatno će biti i više prisutnih vrsta.

Margalefov indeks (d)

Ovaj indeks prevazilazi problem sa veličinom uzorka uključivanjem broja jedinki (N) u uzorak. Indeks tako predstavlja meru broja vrsta u odnosu na ukupan broj prisutnih jedinki u uzorku:

$$d = (S - 1) / \log N$$

Pad vrednosti ovog indeksa ukazuje na rast nivoa zagađenja u vodenom ekosistemu.

2. Kombinovani indeks biodiverziteta

Jasno je da bogatstvo i zastupljenost vrsta (ili dominacija) doprinose raznolikosti mešovite populacije algi vodenih sredina, zbog čega najkorisniji pristup podrazumeva objedinjavanje svih tih parametara. Shannon-Viener-ov indeks raznolikosti je najčešći kombinovani indeks diverziteta, koji uzima u obzir bogatstvo, zastupljenost i obilje zajednice i pretpostavlja da su jedinke uglavnom uzorkovane iz beskrajno velike populacije. Izračunavanje Shannon - Viener indeksa se vrši po formuli:

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

$$H' = \sum P_i (\ln P_i)$$

gde je H' = diverzitet a P_i =proporcija individua u okviru i vrste (izračunate kao n_i/N (ukupan broj)).

Što je vrednost ovog indeksa veća to je veći i diverzitet vrsta fitoplanktonske populacije u vodi.

11.3.2.2. *Fitobentos*

Perifiton je važna komponenta litoralne zone stajaćih voda. Među mnogim grupama algi koje se razmatraju kao bioindikator za jezerski litoral, dijatomeje privlače posebnu pažnju zbog njihove široke geografske distribucije, visoke osetljivosti, dobre očuvanosti, razvijene tehnike indikacije u pogledu saprobnosti i trofičnosti. Većina istraživanja koja se bave litoralnim dijatomejima bazirana su na korelaciji sa varijablama koje nisu povezane sa procesom eutrofizacije, zbog čega su informacije o distribuciji vrsta i njihovim trofičkim zahtevima veoma ograničeni. Dijatomejski indeks trofičnosti po Hofmann-u (1993, 1999) jedan je od retkih primera bioindikacije koji se zasniva na korišćenju jezerskih litoralnih dijatomeja. Tako su 400 vrsta algi (epilitne, epifitonske i sa veštačkih podloga) analizirane u skladu sa njihovim zahtevima sa posebnim akcentom na ukupni fosfor zbog njegove važnosti za trofično stanje vode. Organizmi su na osnovu datih analiza podeljeni u sledeće kategorije: a) grupa ubikvitarnih predstavnika, b) tolerantne vrste pronađene na svim trofičkim nivoima i c) četiri indikativne klase (oligotrafentični, oligo-mezotrafentični, mezo-eutrafentični i eutrafentični taksoni). Ove četiri indikativne klase su kombinovane sa tri faktora težine, a sam indeks se izračunava po formula Zelinke i Marvana (1961), pri čemu se klasifikacija zasniva na pet trofičnih klasa od oligo- do hipertrofičnih.

Literatura:

1. APHA, AWWA, WEF (American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th edn. American Public Health Association, Washington, DC.
2. Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G. (2003): Bioindicators & Biomonitoring Principles, Concepts and Applications. Elsevier, The Netherlands, ISBN: 0-08-044177-7, p.941.
3. Cohn-a (1870)
4. Mez-a (1898)

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

5. Kolkvitz i Marsson (1902, 1908, 1909)
6. Cramek-Hucek (1956)
7. Kolkvitz-a (1950)
8. Liebmann-a (1962)
9. USEPA
10. Felföldy (1987)
11. Schmitt (1998)
12. (Carlson, 1977)
13. OECD (1982)
14. Službeni list Republike Srbije, 2011
15. Pantle, Back (1955)
16. SEV, 1977
17. Okvirnu direktivu o vodama EZ (2000)
18. Behrendt i Opitz (1996)
19. Rott i sar., 1997, 1999
20. Reimann-a i Hamm-a (1996)
21. Schiefele i Kohmann (1993)
22. Lange-Bertalot, 1978
23. Schiefele, 1987;
24. Steinberg i Schiefele, 1988
25. John and Johnson (1991)
26. Hill et al., 2000
27. Veber i McFarland (1969)
28. (Thunmark, 1945)
29. Nigaardu (1949)
30. Jarnefelt i sar. (1963)
31. Heinonen-u (1980)
32. Stockneru (1971)
33. Teiling (1955)
34. Hornstrom, 1981)

11. Alge kao bioindikator stanja i kvaliteta površinskih voda

35. Brettum-u (1989)
36. Hofmann-u (1993, 1999)
37. Zelinke i Marvana (1961)
38. (Loeb i Spacie, 1994)
39. (Schelske, 1984).
40. (Reynolds, 2006)
41. (Carlson 1977,
42. Carlson&Simpson 1996)
43. (Dokulil, 1991, 1996)
44. (Rojo i sar., 1994;
45. Reinolds i Desci, 1996)
46. (Patrick, 1994).
47. (Schonfelder, 2000)
48. (Rott i sar., 1997, 1999)
49. Schiefele i Kohmann (1993)
50. (Vhitmore, 1989)
51. Petrović i sar. (1998)
52. (Odum, 1997)
53. Zarić, I (20??):
54. (Mason, 2002).
55. Pavluk Timur, and bij de Vaate Abraham, Trophic Index and Efficiency, Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier, 2017. 16-Jun-17 doi: 10.1016/B978-0-12-409548-9.00608-4.

Spisak Slika

- Slika 1.** Aktivna i neaktivna forma *Actinophrys*, helioidne amebe: (a) aktivna pelagijska faza sa aksopodijama koje se radijalno šire iz centralnog dela I koje hvataju plen pasivnim kontaktom (flagelate i druge protozoe); (b) metabolički neaktivna faza u bentosu; uočavaju se grupe gustih, otpornih cisti sa detritusom, a nastaje od pelagijske faze kada nema dovoljno hrane (skala 50 µm) 9
- Slika 2.** Ciklus umiranja i regeneracije algi (skala 50 µm): (M) mlada ćelija; (S) ćelija koja umire; (a) „ćerka“ polućelija koja se formira; (b) „majka“ polućelija 10
- Slika 3.** Efekat intraspejske kompeticije na rast populacije jedne vrste (Begon et al., 1996)..... 11
- Slika 3.** Biološke interakcije u biofilmu – malom mikrobnom ekosistemu. Nalazi se na površini kamenja i litoralne zone jezera, a debljina se kreće od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetara. Različiti mikroorganizmi su predstavljeni različitim simbolima: beli pravougaonici – bakterije; beli krugovi – protozoe; sive elipse – protozoe; crne linije – gljive; u zreлом biofilmu matriks (siva zona) je visoko strukturiran, javlja se sa intersticijalnim prostorom kroz koji voda može da protiče (isprekidana linija sa strelicom). Voda takođe protiče po površini biofilma. Pune strelice povezuju organizme sa određenim aktivnostima. 18
- Slika 4.** Quorum sensing kod gram negativnih bakterija – indukcija stacionarne faze pri visokoj gustini ćelija u biofilmu (AHL – acilhomoserin laktoni)..... 19
- Slika 5.** Mikrobni lanci ishrane, trofičke mreže i mikrobne petlje 24
- Slika 6.** Inkorporacija mikrobne petlje u klasičan pelagijski lanac ishrane: (a) klasični pelagijski lanac ishrane; (b) inkorporacija različitih mikrobnih komponenti (po Dobson i Frid, 1998) 25
- Slika 7.** Ekološka piramida tipičnog pelagičnog ekosistema jezera u umerenoj zoni. Nivoi populacija za različite trofičke nivoe unutar vodenog stuba jezera su prikazani kao ukupan broj na levoj strani i biomase (takođe ekvivalentno energetske i nutritivne vrednosti) na desnoj strani. Obrasci broja populacije i biomase imaju jasan piramidalni oblik tokom letnje faze rasta (gornji dijagram), ali ne i tokom zime (donji deo dijagrama) - kada se mnogi od organizama javljaju se na sedimentu u nemetaboličkom rezistentnom stanje. Simboli za različite trofičke nivoe su: P (primarni proizvođači), H (biljojedi), C1 do C3 (mesožderi) (na osnovu Horne i Goldman, 1994)..... 26
- Slika 8.** Pojednostavljena šema (generalizovana mreža ishrane) za trofičke interakcije u pelagičnom slatkovodnom sistemu. Mikroorganizmi su označeni osenčenim pravougaonicima. Pune strelice pokazuju smer protoka ugljenika, uključujući glavnu trofičnu sekvencu (crne strelice) i mikrobnu petlju (sive isprekidane strelice). Protok ugljenika iz praživotinja deo je glavne sekvence (ingestija piko-algi), a takođe i mikrobna petlja (ingestija bakterija). Redosled organizama (pojedinačno ili u grupama) od vrhunskog mesojeda (riba) do primarnih proizvođača (alge) se nazivaju trofična kaskada. Zooplankton predstavljen je sa tri glavne grupe (rotifere, kopepode i kladocere), a fitoplankton pikoalgama, malim kolonijalnim i jednoćelijskim mikroalgama i velikim kolonijalnim formama. DOC je rastvoreni organski ugljenik. 28
- Slika 9.** Stabilni izotopski prelazi u pelagijalnoj trofičkoj mreži Bajkalskog jezera (Rusija). Nivoi dva stabilna izotopa (^{15}N i ^{13}C) su prikazani u okviru pojedinačnih vrsta na četiri trofična nivoa: (1) Fitoplankton: *Aulacoseira*; (2) Zooplankton: *Epischura* (mezo-) i *Macrohectopus* (makro-); (3) Pelagična riba: *Coregonus*; (4) Slatkovodni pečat: *Phoca*. Nivoi izotopa su izraženi kao proizvodnje jedinice prema nebiološkim standardima i prikazani su kao površina oko srednje vrednosti (+ jedna standardna devijacija) (na osnovu Ioshii i sar., 1999) 29

Slika 10. Alternativni modeli strukture zajednice koji pokazuju interakcije između glavnih grupa vodenih organizama pod različitim uslovima fizičkog stresa: (a) u modelu Hairston – Smith – Solobodkin, predator i populacije primarnih proizvođača kontroliše kompeticija, ali biljojede kontrolišu predatori; (b) u Menge – Sutherlandov model, struktura zajednice varira u zavisnosti od nivoa stresa. Sa porastom stresa (nivo 1 do nivoa 4), struktura zajednice postaje jednostavnija i prelazi sa Hairston modela na situacije u kojima postoji progresivno smanjenje efekta predatora (nivo 2), zatim biljojeda (nivo 3). (slika adaptirana iz Dobson i Frid, 1998, na osnovu Hairston et al., 1960 i Menge i Sutherland, 1987).....	34
Slika 11. Bentosna mikrobna petlja u tekućim vodama, pokazuje glavne aktivnosti bentosnih mikroorganizama (osenčena polja) u pronalaženju tokova rastvorljivog ugljenika i reke.....	40
Slika 12. Generalizovana trofička mreža u brzim vodama: prikazane su neke od glavnih veza unutar lotičke trofičke mreže, naglašavajući važnost proizvodnje biomase iz spoljnog ugljenika preko mikrobne petlje (isprekidana strelica); Grube čestice u početku razgrađuju beskičmenjaci (A) na finu partikularnu organsku materiju (FPOM), a zatim uz degradaciono dejstvo enzima (B) na rastvoreni organski ugljenik (DOC). U brzo tekućim izvorima, svetlost deluje prvenstveno na bentosne alge i DOC, sa malo stvaranja autohtonog ugljenika putem fitoplanktona.	41
Slika 1 a) Duboko stratifikovano i b) plitko nestratifikovano jezero sa karakterističnim zajednicama (Biće prevedeno i citirano).....	53
Slika 2 . Stratifikacija jezera umerenog pojasa tokom godine na kome se uočavaju glavne faze pri čemu su prikazani temperaturni gradijenti i mešanje vode	57
Slika 3 Stratifikacija vodene kolone u jezeru umereno kontinentalnog klimatskog područja	58
Slika 4. Močvara (ovde će ići neka druga fotografija).....	60
Slika 5 Efekat rečnog toka na bentosne mikroorganizme	64
Slika 6 Slikovni prikaz koncepta rečnog kontinuuma	66
Slika 7 Šematski prikaz estuara	67
Slika 8. Struktura mikrofitobentosa u estuarima na muljevitim površinama koji se nalaze u zoni plime i oseke	68
Slika 9 Uticaj temperature na brzinu rasta kod predstavnika pojedinih grupa mikroorganizama (Madigan et al, 2019)	74
Slika 10 Odnos pH vrednosti sredine i maksimalne brzine rasta pojedinih grupa mikroorganizama (izvor https://microbeonline.com/ph-requirements-microorganism/)	76
Slika 11 Uticaj koncentracije NaCl na rast mikroorganizama koji pokazuju različitu toleranciju i zahteve za so (Madigan et al., 2019)	78
Slika 12 Mikrobiološka zajednica na graničnoj površini vazduh-voda	81
Slika 13 Fizičko-hemijski procesi razmene i transformacije na graničnom sloju vazduh voda	82
Slika 1 Osnovne komponente lanaca ishrane (Čomić, 1999).....	88
Slika 2 Proces kruženja azota u vodenim sredinama (Segee, 2005)	93
Slika 1 Taksonomska raznovrsnost planktonskih slatkovodnih algi: (foto Simeunović).....	104
Slika 3 Dijagram dinamičke interakcije između slobodnih pelagijskih i nepelagijskih (bentosnih) faza u životu algi u jezerskim i rečnim sredinama. Duboko jezero: sediment nije unutar fotičke zone, tako da nema fotosintetskih bentosnih algi. A- Otporne spore bentosa stvaraju planktonske populacije i obrnuto. B- Neke slobodne planktonske alge se javljaju u ravnoteži sa pričvršćenim (epifitskim) populacijama koje su u asocijaciji sa velikim kolonijalnim algama i drugim organizmima. Plitka reka: visok nivo svetlosti podržava snažan rast zajednica epifita i bentosnih algi, koje mogu biti odvojene od podloge strujom da bi formirale fitoplankton: Epifitne alge prisutne na makrofitama (m) uključuju nitaste i jednoćelijske oblike: C- nitaste alge se mogu odvojiti da bi formirale masu filamenata (metafiton); D- jednoćelijske alge su u ravnoteži sa planktonskim populacijama. Bentosne alge (perifiton): E- pričvršćene mikroalge (npr. dijatomeje)	

odvajanjem postaju planktonske ćelije; F- makroskopske nitaste alge takođe se mogu odvojiti što dovodi do stvaranja planktonskih fragmenata.....	117
Slika 4 Privremene aktivnosti slatkovodnog fitoplanktona: vremenska skala se može okvirno podeliti na kratkoročne (donja osenčena polja), srednjoročne i dugoročne (vršna tamnije osenčena polja) periode	122
Slika 1. Horizontalni transfer genetičkog materijala: transformacija, transdukcija i konjugacija (Izvor:).....	136
Slika 2. Poređenje metaboličkih osobina slatkovodnih bakterija; zbog jednostavnosti, alge su predstavljene kao autotrofi, bakterije heterotrofi	140
Slika 3. Sekvenca akceptora elektrona od aerobnih do anaerobnih uslova prati sekvencu slobodne energije oslobođene iz jednog mola organske materije tokom oksidacije ili fermentacije.....	142
Slika 4. Stadijumi anaerobne razgradnje kompleksnih organskih molekula (Wetzel, 1983).....	143
Slika 5. Molekularni odgovor Gram negativnih bakterija na uslove ograničenih nutrijenata (na osnovu Zambron i Kolter, 1996).....	147
Slika 6. Bakterije obojene akridin oranžom pod fluorescentnim mikroskopom (zelene ćelije su žive, narandžaste mrtve) (levo) i DAPI fluorescentnom bojom (desno)	152
Slika 7. Ukupan i vijabilni broj bakterija u vodi dubokog mezotrofnog jezera (Windermere, UK) i plitkog eutrofnog jezera (Esthwaite Water, UK) tokom letnje stratifikacije; isprekidana linija je maksimum u epilimnionu (Ep) (Horne and Goldman, 1994; Jones, 1971)	153
Slika 8. Kontrola bakterijske biomase od gore ka dole i od dole ka gore: DOC – rastvoreni organski ugljenik, a strelice ukazuju na tok ugljenika.....	155
Slika 9. Korelacija između bakterioplanktona i populacije fitoplanktona (konc. hlorofila-a) u slatkovodnim sistemima: isprekidane linije su 95% granice pouzdanosti regresione linije - podaci za morske i vode estuara daju blisko sličan grafikon (sprema Bird & Kalff, 1984)	156
Slika 10. Veza između bakterijske produktivnosti i glavnog izvora hrane u pelagičkim i bentosnim sistemima: (a) produktivnost bakterioplanktona i primarna proizvodnja, gde je glavna zaliha hrane rastvoreni organski ugljenik (DOC) oslobođen fitoplanktonom (b) bentosna bakterijska produktivnost i organski sadržaj sedimenta, gde je glavno snabdevanje hranom organski detritus. Na oba grafikona produktivnost bakterija je izmerena uzimanjem timidina (krugovi) ili drugim metodama (trouglovi), za slatkovodne (crni simboli) i morske (beli simboli) sisteme (slika po Cole et al., 1988).....	157
Slika 11. Direktne i indirektno veze između produktivnosti algi i bakterija u vodenom stubu jezera: Sadržaj fosfora zooplanktona DOC je posebno važan za rast bakterija u uslovima ograničenog P (pune strelice označavaju protok ugljenika, uključujući mikrobnu petlju)	158
Slika 11. Nastanak bakterijskog biofilma: protok vode sa nutrijentima u zreloj zajednici biofilma (pokazuju pune strelice); C= grupe bakterijskih ćelija.....	161
Slika 12. Opšte interakcije između fitoplanktona i bakterija. Planktonske alge stupaju u interakciju sa epifitnim i planktonskim bakterijama na različite načine. Mnoge od ovih interakcija su trofične, sa algama koje deluju kao direktan izvor hrane ili se takmiče sa bakterijama.	162
Slika 13. Interakcije između planktonskih algi i bakterije za glavne neorganske hranljive sastojke (azot i fosfor) u jezerskom vodenom stubu: pored direktne kompeticije za hranljive materije, metaboličke aktivnosti fitoplanktona (oslobađanje fotosintata DOC) i bakterija (degradacija algalnog detritusa) takođe utiču na dostupnost i usvajanje N i P.....	163
Slika 14. Formiranje akrilne kiseline od strane algi, tj. hrizofita	164
Slika 15. Životni ciklus bakterije <i>Bdellovibrio</i> sp.	167
Slika 16. Mikrokosmos algi: dijagram predstavlja mikrobnu raznolikost i interakcije u površinskom mikrookruženju (fikosfera) kolonijalne cijanobakterije <i>Anabaena</i>	168

- Slika 17.** Epifitne bakterije u *Microcystis aeruginosa*. (a) Detaljan prikaz kolonije svetlosnim mikroskopom (b) koja prikazuje pojedinačne ćelije mikrocistisa (M), ugrađene u sluzni matiks. Veličina ćelija je od 3–5 μm , a neke ćelije (D) su upravo završile podelu. Pojavljuju se kokoidne epifitne bakterije (C) kao svetla tela, sa lancem nitastih bakterija (F). (b) Cela kolonija *Microcystis* sa brojnim ćelijama, prikazuje tipičan nepravilan izgled ovog kolonijalnog organizma. Epifitne bakterije se teže uočavaju pri ovom uvećanju. (skala = 100 μm) 169
- Slika 18.** Specifičnost i kinetika bakterijske adhezije na filamente *Anabaena*: (a) dijagram za tri slatkovodna izolata - *Flavobacterium* sp, *Pseudomonas* sp i *Zooglea* sp. H - heterocista, V-vegetativna ćelija, m - površina površine; (b) kinetika adhezije *Pseudomonas* sp. i *Zooglea* sp. Koja je povećana (prikačene ćelije) u slučaju porasta koncentracija planktona (slobodne) ćelije (na osnovu Luptona i Marshall, 1981)..... 171
- Slika 19.** Hemijske interakcije u fikosferi. Epifitne bakterije, u direktnom kontaktu ili bliskoj vezi sa ćelijama algi razmenjuju niz hranljivih sastojaka i metaboliti sa svojim fototrofnim partnerima. Oni takođe utiču na neposrednu mikrookolinu oko ćelije algi, povećavajući koncentraciju CO_2 , ali smanjujući koncentraciju kiseonika, pH i redoks potencijal (Eh). Epifitne bakterije pod uticajem hemijskih promena (npr. hemotaksični agensi) u sopstvenoj mikrookolini (na osnovu Paerla, 1992) 172
- Slika 1.** Odnosi između slobodnih i unutarćelijskih virusa u slatkoj vodi: proizvodnja ciklus za obligatno litičke viruse (A-B-D) prati drugačiji put od umerenog virusi (A-B-C-D); dugoročno preživljavanje virusa se odvija u fazama A i C (osenčena polja) 177
- Slika 2.** Prikaz metode određivanja brojnosti vodenih virusa pomoću konfluentnog rasta bakterija. Gornji dijagram i bočni prikaz petrijeve ploče sa inokulisanim virusom, a nakon inkubacije uočavaju se virusne plake. Svaki plak nastao je iz pojedinačne infekcije bakterija sa virusom iz uzorka. Različite veličine plaka posledica su infekcije različitim virusima koji mogu da inficiraju bakteriju domaćina. Bakteriofagi se mogu izolovati iz pojedinačnih plaka za dalju karakterizaciju 179
- Slika 3.** Ciljna sekvenca nukleotida za fikovirus za PCR prajmer: generička mapa DNK polimeraze B ima konzervisane motive (crni kvadrati) i njihove moguće funkcije. najkonzervativnija aminokiselinska sekvenca (I) je katalitičko mesto; dNTP - deoksinukleotid trifosfat (na osnova Čena i Suttle, 1995) 180
- Slika 4.** Produkcija virusa i bakterija u epilimnionu eutrofnog jezera Plußsee, severna Nemačka. Vrednosti za litički i predatorski mortalitet bakterija izražen je kao procenat proizvodnje bakterija i veoma je promenljiv; protok ugljenika (strelice) (na osnovu Veinbauera i Ho^o flea, 1998) 181
- Slika 5.** Vremenski tok inhibicije fotosinteze vodenim virusima: vremenski tok unosa ^{14}C -bikarbonata u fitoplankton u prirodnoj morskoj vodi u koju je virusna suspenzija dodata (donji grafikon) ili nije (gornji grafikon) (prema Suttle, 1992) 185
- Slika 6.** Uništavanje hlorofila i inhibicija fotosinteze u morskom fitoplanktonu dodatkom virusa: smanjenje fluorescencije hlorofila (a) i stopa fiksiranja ugljenika (b) prikazani su za opseg koncentracija virusa (0–80 ambijentalnih) 8 sati nakon dodavanja virusa (preuzeto iz Suttle, 1992) 185
- Slika 7.** Virusi i pelagična mikrobna trofička mreža. Strelice pokazuju smer kretanja ugljenika. Virusna infekcija algi (A) i bakterija (B) rezultira konverzijom biomase ćelije domaćina da oslobodi rastvorljive makromolekule i čestice virusa. Oba, oslobođeni lizom ćelije domaćina, doprinose rastvorenom organskom ugljeniku (DOC) u vodenoj sredini (osenčeni delovi). Porast populacije heterotrofni nanoflagelati (HNF) zavisi od dostupnosti bakterija. Produktivnost fitoplanktona, HNF i bakterija određuju protok ugljenika u zooplanktonu i celu mrežu ispaše. Dugoročno gledano efekat virusne infekcije je smanjenje protoka ugljenika u mikrobnoj trofičkoj mreži..... 186
- Slika 8.** LPP infekcija cijanofaga i ćelija domaćina. Prikazana je kumulativna stopa fotosinteze inficirane (puna linija) i neinficirane (isprekidana linija) kulture *Plectonema*. Fotosinteza se meri kao

- asimilacija CO₂, utvrđeno ugrađivanjem NaH₂CO₃ u ćelije. Otprilike 3 sata nakon virusne infekcije nema efekta na stopu fotosinteze (osenčeni deo) (na osnovu Padan i Shilo, 1973)..... 187
- Slika 7.1** Rast i aktivnost *Tetracladium* (Hyphomycetes) na lisnim diskovima: (a) respiracija gljiva paralelno raste s porastom biomase gljiva; (b) inokulacija lisnih diskova dovodi do faze (od 5–20 sati) rasta gljiva, sa odgovarajućim padom biomase listova (na osnovu slike iz Suberkropp-a, 1992.)..... 200
- Slika 7.2** Glavni faze tokom procesa raspadanja lišća u potocima i rečicama umerenog toka (zasnovano na prilogu iz Allana, 1995)..... 201
- Slika 7.3** Životni ciklus *Nowakowskiella ramosa*: životni ciklus se sastoji od dve faze, glavne faze rasta (A – F) i faze formiranja spore u mirovanju (G – H) sa narednom generacijom zoospora (I – K) (slika preuzeta od Alekopoulos-a i saradnika, (1996)..... 204
- Slika 7.4** Opšta šema životnog ciklusa parazitskih gljiva iz klase Chytridiomycetes: diploidna faza životnog ciklusa (levo od isprekidane linije) stvara brojne zoospore. Studije hitridne infekcije planktonskih algi koncentrisane su posebno na *Asterionella formosa* i *Rhizophyidium planktonicum*, ali ostale proučavane kombinacije uključuju *Asterionella/Zygorhizidium*, *Oocystis/Chytridium deltanum* i *Pandorina/Dangeardia mammillata* (slika preuzeta od Alexopoulos, 1962, uz odobrenje John Wiley & Sons) 217
- Slika 7.5** Infekcija alge roda *Asterionella* od strane gljive iz roda *Rhizophyidium*- Promene u populaciji pokazuju promene u posmatranoj populaciji alge: (proj.) – predviđena odnosno projektovana brojnost bez gljivične infekcije; (Ast.) populacija alge; (Rhiz.) populacija gljive; (inf.) procenat inficiranih; b) broj živih ćelija u koloniji alge. Vertikalna neisprekidana linija označava početak gljivične infekcije..... 219
- Slika 7.6** Efekat gljivične infekcije na promene populacije pojedinih vrsta algi u fitoplanktonu jezera: zaražene alge (zasenčeni krugovi) i nezaražene alge (otvoreni krugovi) 220
- Slika 7.7** Odnos brojnosti populacije algi i razvoja populacije gljiva: gljivična infekcija (strelice) neinficiranih ćelija (otvoreni krugovi) od zaraženih ćelija (zasenčeni krugovi) prikazana je na različitim nivoima populacije algi 221
- Slika 7.8** Uticaj svetla na parametre rasta alge *Asterionella* i parazitske gljive *Rhizophyidium planktonicum*. Razlika u intezitetu svetla ima veliki uticaj na broj zoospora po sporangiji (2) i infektivnost zoospora (4), ali mnogo manji uticaj na vreme potrebno za razvoj sporangije (1) i infektivno vreme zoospora (3). (Relativne vrednosti parametara (%), Intezitet svetla $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$).... 222
- Slika 7.9** Uticaj inteziteta svetla na vrednosti praga preživljavanja i praga epidemije na primeru infekcije alge *Asterionella* i parazita *Rhizophyidium* (preuzeto iz Sigee, 2005) (slika preuzeta iz Van Donk and Brunning, 1992)..... 224
- Slika 1.** *Paramecium bursaria*. Ova velika cilijata je veoma pokretna, krećući se preko supstrata pomoću cilija (c) koje pokrivaju celu ćeliju. Organizam poseduje dvojni metabolizam, ima mogućnost ingestije čestica (heterotrofno), ali može da vrši i fotosintezu pomoću zoohlora (rod *Chlorella*). Ove endosimbiotske zelene alge (e) liče na granule, ispunjavajući celu citoplazmu i dajući ćeliji svetlo zelenu boju. Alge mogu biti izolovane i uzgajane u kulturi i koriste se za istraživanje virusnih infekcija. Bleda centralna zona ukazuje na prisustvo velikih makronukleusa (m) 232
- Slika 2.** Kolonija modro zelene alge *Gomphosphaeria* sa efitinim cilijatnim protozoama (*Vorticella* sp.): pričvršćivanje za površinu alge pomoću drške koja se izdužuje se može jasno videti kod tri protozoe (označeno strelicama)..... 233
- Slika 3.** *Peranema trichophorum* – euglenoidna flagelata. Visoko aktivna fagotrofna flagelata, koja ne pliva nego klizi koristeći istaknutu anteriornu flagelu (f). *Peranema* takođe ima drugu i kraću flagelu koja je rekurentna i ekstremno teška za uočiti. Ova vrsta je bezbojna i hrani se bakterijama i manjim protistima (razmer = 50 μm) 236

Slika 4. Heliozoe i rizopodne amoebe: (a) <i>Actinosphaerium eichornii</i> . Velika heliozoa. Ovaj organizam ima mnogo ruku (aksopodija) koje su usidrene u centralnom multinuklearnom prostoru (m) ćelije. Ruke prolaze kroz perifernu vakuoliziranu citoplazmu (c), izlazeći kao produžene strukture, sužavajući se od baze prema vrhu. <i>Actinosphaerium</i> se hrani pokretnim protozoama, jednoćelijskim algama, i malim metazoama (rotiferama) koje dolaze u kontakt i bivaju imobilizovane aksopodijama (razmer = 100 µm). (b) <i>Amoeba proteus</i> . Jako velika rizopodna amoeba, koja je tipično aktivna dok vrši inkapsulaciju plena i fagocitozu. Ovaj primerak se aktivno kreće i izdužuje svoje pseudopodije (p) na desno ostavljajući trag u posteriornom regionu (t). Protoplazma je granularna i sadrži istaknuti nukelus (n) (razmer = 200 µm)	240
Slika 5. Pozicioniranje mikroaerofilnih cilijatnih protozoa <i>Loxodes</i> u vodenom stubu: organizmi se vraćaju <i>Loxodes</i> sloju pozitivnom ili negativnom geotaksijom kad se kreću u regione sa većom ili manjom koncentracijom kiseonika	242
Slika 6. Populacija <i>Bodo saltans</i> – heterotrofne nanoflagelate: Neke od flagelata su probile raspadajući organski materijal, usvajaju bakterije koje se nalaze u njemu, dok druge usvajaju bakterijske ćelije koje su izašle u generalni medijum. Individualne <i>Bodo</i> ćelije imaju veliku posteriornu flagelu veličine 5µm u dijametru (razmer = 50 µm). Isečak: detalji iz unutrašnjosti otpada, strelice pokazuju flagelatne ćelije susjedne regionu sa bakterijskim ćelijama (b) (razmer = 10 µm) (preuzeto iz Sigee, 2004)	243
Slika 7. Vertikalna distribucija kiseonika, vodoniksulfida i mikroorganizama u Jezeru Belovod, Rusija. Razmeri populacija (desno) – rotifere ($\times 10^2 l^{-1}$) i kladocera ($\times 10^4 l^{-1}$), protozoa ($\times 10^1 l^{-1}$) ..	250
Slika 8. Odgovor mikroorganizama na prisustvo rastvorljivih organskih zagađujućih materija – uticaj parametara staništa. Koncentracija rastvorljivog organskog zagađivača i uslovi svetla/mraka utiču na odgovor mikrobne zajednice. Sa visokim koncentracijama zagađivača, celi akvatični sistem postaje anaeroban (sivi kvadrat) gde samo fakultativni i obligatni anaerobi mogu da prežive.....	254
Šema 1 Uzroci pojave masovnog razvoja potencijalno toksičnih cijanobakterija i uticaj na kvalitet vode za rekreaciju (Simeunović, 2010).....	258
Šema 2 Efekat cvetanja cijanobakterija i cijanotoksina na lanac ishrane u vodenoj sredini (Zurawell i sar., 2005)	265
Slika 1 Strukturne forme cijanotoksina mikrocistina (Chorus i Bartram, 1999)	271
Slika 2 Struktura cijanotoksina nodularina (Chorus i Bartram, 1999)	272
Slika 3 Struktura cijanotoksina cilindrospermopsina (Chorus i Bartram, 1999).....	273
Slika 4 Strukture anatoksin (Chorus i Bartram, 1999)	274
Slika 5 Strukturna osnova saksitoksina (Chorus i Bartram, 1999)	275
Slika 6 Struktura toksina lingbiatoksin a (Chorus i Bartram, 1999).....	275
Slika 1. Veza između enterobakterija, ukupnih i fekalnih koliforma i <i>E. coli</i>	289
Slika 2. Izvođenje MPN metode; inokulacija različitih razređenja/zapremine uzoraka u ponavljanjima (5 ponavljanja na slici). Nakon inkubacije prati se prosukcija kiseline i gasa pomoću Durhamovih cevčica.	290
Slika 3. <i>E. coli</i> na Endo agaru (levo) i Eozin metilen plavo podlozi (desno)	291
https://microbiologylaboratoryturkey.blogspot.com/2018/11/endo-agar.html	291
Slika 4. Membranska filtracija uzorka.....	292
Slika 5. Otkrivanje indikatorske bakterije sa Colilertom. (A) Dodavanje podloge sa supstratom za uzorak vode; (B) žuta boja koja označava prisustvo koliformnih bakterija; (C) fluorescencija pod dugim talasima ultraljubičastog svetla koje ukazuje prisustvo <i>E. coli</i>	293
Slika 6. Struktura MUG supstrata.....	293
Slika 7. Definicija enterokoka, rupe streptokoka i fekalnih streptokoka	295

Slika 8. Enterokoke na podlozi sa eskulinom (levo) i na podlozi sa TTC-om (desno).....	296
https://www.carlroth.com/de/en/media-for-enterobacteria/bile-esculin-azide-agar/p/cp62.1	296
https://www.humeau.com/media/blfa_files/274620.pdf	296
Slika 9. Sulfitoredukujuće klostridije u dubokom agaru, u kome u anaerobnim uskovima stvaraju crne kolonije od produkovanog H ₂ S, koji reaguje sa gvožđem u podlozi i nastaje crni FeS https://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-634_TDS_EN.pdf	297
Slika 10. Plake bakteriofaga na bakterijskom rastu.....	298
Slika 14. <i>P. aeruginosa</i> na cetrimid agaru na kome stvara zeleni egzopigment.....	300
Slika 10. Priprema desetostepenih razređenja uzorka	307
Slika 11. Kolonije heterotrofnih bakterija na hranljivoj podlozi. Sa leva nadesno su zasejana različita razređenja uzorka (od manjeg ka većem), pa se broj kolonija smanjuje.	307
Slika 12. Kolonije na R2A podlozi; obično se detektuje veća brojnost za isti uzorak nego kad se koriste uobičajene podloge za heterotrofe; kolonije su često pigmentisane i mnoge bakterije koje ne mogu da rastu na uobičajenim podlogama mogu da rastu na ovoj podlozi.....	308

Spisak Tabela

Tabela 1 Tri domena života u slatkovodnim ekosistemima; u domenu Eukarya je 4 carstva, a mikroorganizmi obuhvataju samo prva dva: Protista (protozoe, alge, sluzave gljive), Fungi, Animalia i Plantae.....	2
Tabela 2 Kategorije slatkovodnog planktona u zavisnosti od veličine.....	4
Tabela 3. Saprotrofni način ishrane.....	5
Tabela 4 Predatorski način ishrane.....	6
Tabela 5 Asocijacije živih organizama.....	7
Tabela 6 Biološke karakteristike spoljašnje sredine i strategije organizama.....	12
Tabela 7 Diverzitet vrsta, zajednica i grupa zajednica na različitim nivoima organizacije slatkovodnih ekosistema.....	13
Tabela 8 Pomoćne zajednice u centralnoj i litoralnoj zoni jezera umerenih područja.....	14
Tabela 9 Glavne ekosistemske funkcije u mešovitim mikrobnim zajednicama biofilma.....	16
Tabela 10 Interakcije mikroorganizama u pelagijalu.....	22
Tabela 11 Odgovor na stres u vodenom sistemu: P – energija za produkciju biomase; R – respiracija; B – biomasa (Odum, 1985).....	32
Tabela 12 Uloga autohtonog i alohtonog DOC u različitim rekama (Burney, 1994).....	39
Tabela 13 Ključne razlike između mikrobnih petlji tekućih i stajaćih voda.....	42
Tabela 14 Asimilacija bakterijskog ugljenika od strane konzumenata u potocima merena upotrebom radioizotopa; sivi delovi – vrednosti asimilacije ugljenika >1 (iz Meyer, 1994).....	42
Tabela 15 Klasifikacija organskog materijala u akvatičnim sredinama na osnovu veličine.....	45
Tabela 16 Neke osobine vode (Dodds and Whiles, 2020).....	46
Tabela 17 Fizički i biološki faktori koji utiču na zajednice mikroorganizama u različitim slatkovodnim staništima.....	49
Tabela 18 Opšte karakteristike oligotrofnih i eutrofnih jezera.....	54
Tabela 19 Osnovne karakteristike slatkovodnih algi.....	102
Table 1 Prelaz sa autotrofije na heterotrofiju kod flagelatnih algi (vertikalne strelice ističu prelaz od fakultativne do obligatne heterotrofije).....	130
Tabela 21 Klasifikacija glavnih grupa mikroorganizama prema metaboličkim karakteristikama; aerobi su označeni sivom bojom; Prisutne su u svim delovima ekosistema u različitoj brojnosti, ali npr. anaerobi dominiraju na dnu i dr. anaerobnim mikrosredinama u lotičkim i lentičkim sistemima.....	138
Tabela 22 Oksidacija redukovanih neorganskih jedinjenja u aerobnim uslovima od strane hemolitotrofa.....	141
Tabela 23 Odgovor akvatičnih bakterija na gladovanje.....	144
Tabela 24 Glavne grupe anoksigenih fotosintetskih bakterija.....	147
Tabela 25 Pokretljivost i gasne vezikule kod purpurnih sumpornih bakterija.....	150
Tabela 26 Bakterijska produktivnost u vodenom stubu i na sedimentu eutrofnog i oligotrofnog jezera (prema Cole i sar, 1988).....	159
Tabela 27 Antagonističke interakcije bakterija i cijanobakterija/algi.....	165
Tabela 28 Izračunavanje stepena virusne adsorpcije za različite sisteme fag-domaćin u planktonskoj zajednici (po Bradbak i sar., 1994).....	183
Tabela 7.1 Taksonomski i trofički diverzitet gljiva (preuzeto iz Sigeo, 2005).....	195

Tabela 7.2 Diverzitet gljiva u površinskim vodama (izvor Gulis et al., 2009).....	196
Tabela 7.3 Procenjeno vreme poluživota bioloških polimera u prirodnom okruženju (prilagođeno od Lengeler et al., 1999)	197
Tabela 7.4 Uticaj gljiva i bakterija na razgradnju brestovog lišća u tekućoj vodi (podaci iz Kaushik i Hines, 1971).....	202
Tabela 29 Glavne grupe slobodnoživećih cilijatnih protozoa	230
Tabela 30 Glavne grupe slobodnoživećih bezbojnih flagelata.....	237
Tabela 31 Velike grupe slobodnoživećih slatkovodnih ameboidnih protozoa.....	238
Tabela 32 Glavne heterotrofne nanoflagelatne grupe u jezerima umerenog klimatskog pojasa. Auer& Arndt, 2001 preuzeto iz Sigee, 2004).....	245
Tabela 34 Intenzitet ispaše flagelata u slatkovodnim sistemima (Berninger i sar. 1991b; preuzeto iz Sigee, 2004)	248
Tabela 35 Bakterijska produkcija i gubici ishranom u slatkovodnim sistemima (Sanders i sar., 1989; preuzeto iz Sigee, 2004)	249
Tabela 36 Klasifikacija trofičnosti za slatkovodna jezera na osnovu fiksnih graničnih vrednosti koncentracije nutrijenata i fitoplanktonske produkcije na osnovu OECD sistema	260
Tabela 37 Klasifikacija procesa eutrofizacije u rekama prema Agenciji za zaštitu životne sredine Velike Britanije (1998).....	262
Tabela 38 Cijanotoksini i njihova akutna toksičnost (WHO, 1998).....	276
Tabela 39 Kriterijumi za idealni indikatorski organizam.....	286
Tabela 40 Indikatorski organizmi u otpadnoj vodi.....	287
Tabela 41 Mikroorganizmi u animalnom fecesu	287
Tabela 42 Definicija i primeri indikatorskih mikroorganizama	288
Tabela 43 Detekcija porekla fekalne kontaminacije.....	294
Tabela 44 Procena mikrobiološkog kvaliteta površinskih voda zasnovana na brojnosti bakterija standardnih indikatora fekalnog zagađenja (ukupni koliformi, fekalni koliformi i fekalne streptokoke). Brojnost bakterija je data u jedinicama CFU/100ml ili MPN/100ml (Kavka & Poetsch, 2002).....	301
Tabela 45 Klasifikacija kvaliteta površinskih voda zasnovana na mikrobiološkim parametrima fekalnog zagađenja. Koncentracije indikatora fekalnog zagađenja su date kao CFU/100 ml i MPN/100 ml (Kavka et al 2006; Kirschner et al 2009) (preuzeto iz Kirschner et al., 2016)	302
Tabela 46 Kriterijumi ispravnosti vode za piće prema EU standardima	302
Tabela 47 Brojnost aerobnih heterotrofnih bakterija u rekama i neprerađenim (sirovim) otpadnim vodama (preuzeto iz Geldreich 2002, Encilopedija Env. Microbiology)	304
Tabela 48 Klasifikacija nivoa organskog zagađenja reka lakorazgradljivim organskim materijama na osnovu broja aerobnih heterotrofnih bakterija AHB CFU/ml (Kohl, 1975 pruzeto iz Kavka et al, 2006).....	309
Tabela 49 Kategorizacija vode prema opterećenosti organskim polutantima na osnovu indeksa fosfatazne aktivnosti vode (Matavulj, 1986).....	314
Tabela 12 Najčešće metode praćenja mikrobioloških izvora (Pepper and Gerba, 2014).....	316
Tabela 50 Kategorizacija voda na osnovu hlorofila a (Felföldy, 1987).....	324
Tabela 51 Klasifikacija vode na osnovu indeksa trofičnosti	326
Tabela 52 Kriterijumi za klasifikaciju trofičnosti reka sa dominacijom fitoplanktonskih vrsta (modifikovano Schmitt, 1998).....	329
Tabela 53 Parametri za karakterizaciju trofičnosti u rekama i jezerima (modifikacija Felföldy, 1987)	330

Tabela 54 Odnos nivoa trofičnosti i dijatomejskog indeksa trofičnosti (TDI), uslova trofičnosti i opterećenje nutrijentima (modifikovano Schiefele and Kohmann, 1993)	332
Tabela 55 Bioindikacija trofičnosti i zagađenja prema sistemu različitih vrsta dijatomeja (Steinberg i Schiefele, 1988)	332
Tabela 56 Trofiki nivoi na osnovu složenog indeksa	335
Tabela 57 Klasifikaciju jezera na osnovu odnosa Araphidineae / Centrales.....	336