



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta

Luka NOVAK

**VPLIV SVETLOBE NA DISTRIBUCIJO
PODZEMELJSKIH IN POVRŠINSKIH POSTRANIC**

Magistrsko delo
Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2014



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta

Luka NOVAK

**VPLIV SVETLOBE NA DISTRIBUCIJO
PODZEMELJSKIH IN POVRŠINSKIH POSTRANIC**

Magistrsko delo
Magistrski študij – 2. stopnja

**INFLUENCE OF LIGHT ON THE DISTRIBUTION OF
SUBTERRANEAN AND SURFACE AMPHIPODS**

M. Sc. Thesis
Master Study Programmes

Ljubljana, 2014

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje, Ekologija in biodiverzitet, na Biotehniški fakulteti na Univerzi v Ljubljani. Terensko delo je potekalo na izbranih lokacijah Slovenije in Hrvaške. Eksperimentalni in analitični del naloge sta bila opravljena na Katedri za zoologijo, Oddeleku za biologijo na Biotehniški fakulteti.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za biologijo ter Senat Oddelka za biologijo sta dne 23. maja 2014 za mentorja magistrske naloge imenovala doc. dr. Ceneta Fišerja ter za recenzentko doc. dr. Simono Prevorčnik. Za predsednika Komisije za oceno in zagovor magistrskega dela je bil imenovan doc. dr. Primož Zidar.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Primož ZIDAR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Cene FIŠER, mentor

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Simona PREVORČNIK, recenzentka

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 24. december 2014

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Luka Novak

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

- ŠD Du2
- DK 574.1:595.371(043.2)=163.6
- KG izbira habitata/distribucija/odziv na svetlobo/podzemeljska favna/*Niphargus*
- AV NOVAK, Luka, dipl. biol. (UN)
- SA FIŠER, Cene
- KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ekologija in biodiverzitet
- LI 2014
- IN VPLIV SVETLOBE NA DISTRIBUCIJO PODZEMELJSKIH IN POVRŠINSKIH
POSTRANIC
- TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja)
- OP VI, 35 str., 6 pregl., 7 sl., 6 pril., 92 vir.
- IJ sl
- Jl sl/en
- AI Distribucija vrst je ena izmed osrednjih tem v preučevanju biodiverzitet. Med vzorci vrstne pestrosti ostaja nepojasnjena izrazita izmenjava površinske in podzemeljske favne na stiku obeh ekosistemov. Distribucijo največkrat razlagajo z naborom okoljskih dejavnikov, medtem ko vedenje živali pogosto ostaja prezrto. Domnevamo, da bi razmejitev lahko pojasnili z mehanizmom izbire habitata, naborom vedenjskih vzorcev, ki osebkom omogočajo prepoznavo optimalnega življenjskega prostora. Distribucijo bi torej lahko razumeli kot odraz izbire habitata v prostoru. Svetloba najostreje razmejuje površinsko in podzemeljsko okolje in bi lahko pomembno pripomogla k orientaciji osebkov vzdolž stika obeh ekosistemov. Namen magistrske naloge je bil ugotoviti ali lahko z vedenjskim odzivom na svetlobo pojasnimo distribucijo površinskih in podzemeljskih vrst. Pri desetih vrstah podzemeljskih slepih postranic iz rodu *Niphargus*, ki jih najdemo na stiku površinskega in podzemeljskega ekosistema, smo izmerili odziv na šest jakosti svetlobe ter ga primerjali z odzivom sobivajočih površinskih postranic iz rodov *Gammarus* in *Echinogammarus*. Podatke smo analizirali s posplošenim linearnim mešanim modelom. Za razliko od izrazito fotofobnih podzemeljskih, so bile površinske postranice fotonevtralne do šibko fotofobne. Različen vedenjski odziv obeh ekotipov verjetno vodi v ločeno prostorsko razporejanje vzdolž svetlobnega gradienta in pomembno prispeva k razmejitvi obeh favn. Naši rezultati kažejo, da vedenjski odziv lahko pomembno prispeva k celovitejšemu razumevanju distribucije živali, zaradi česar se vedenje živali kaže kot obetavno izhodišče za nadaljnje mikro- in makroekološke študije.

KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

ND Du2

DC 574.1:595.371(043.2)=163.6

CX habitat choice/distribution/response to light/subterranean fauna/*Niphargus*

AU NOVAK, Luka

AA FIŠER, Cene

PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Ecology and biodiversity

PY 2014

TI INFLUENCE OF LIGHT ON THE DISTRIBUTION OF SUBTERRANEAN AND SURFACE AMPHIPODS

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)

NO VI, 35 p., 6 tab., 7 fig., 6 ann., 92 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Species distribution is one of the central topics in biodiversity research. Among the biodiversity patterns, sharp interchange of surface and subterranean fauna along the contact zone of both ecosystems remains unexplained. Distribution is commonly seen as a result of environmental factors, whereas the role of animal behavior remains ignored. We presume that the habitat choice mechanism, a set of behavioral patterns that enables each individual to identify its optimal habitat, could also explain the distribution. Species distribution could therefore be interpreted as an outcome of habitat selection. Since light is the sharpest factor delineating surface and subterranean environment, it could contribute significantly to the orientation of individuals along the contact zone of both ecosystems. The main focus of this study was to determine whether the distribution of surface and subterranean species could be explained with a behavioral response to the light. Response to six intensities of light was measured on ten species of subterranean eyeless amphipods (*Niphargus*), living along contact zone of surface and subterranean ecosystem, and compared to the response of coexisting surface amphipods (*Gammarus*, *Echinogammarus*). Data was analyzed with a generalized linear mixed model. Unlike the highly photophobic subterranean, the surface amphipods were photoneutral to weakly photophobic. A different behavioral response of both ecotypes most likely leads to a separate spatial distribution along the light gradient, which could contribute significantly to the interchange of both faunas. Our results illuminate behavioral response as an important factor at explaining species distribution, as well as a promising starting point for further micro- and macroecological studies.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI).....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO SLIK.....	VI
KAZALO PRILOG	VI
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 EKOLOŠKA NIŠA IN DISTRIBUCIJA	3
2.2 PROBLEMATIKA PREUČEVANJA DISTRIBUCIJE VRST	4
2.3 IZBIRA HABITATA	5
2.4 IZVIR KOT MODELNI SISTEM ZA PREUČEVANJE IZBIRE HABITATA	6
2.5 SLEPE POSTRANICE IN SVETLOBA.....	7
3 MATERIALI IN METODE	9
3.1 IZBOR VRST IN VZORČENJE	9
3.2 AKLIMACIJA.....	11
3.3 MERJENJE VEDENJSKEGA ODZIVA NA SVETLOBO	12
3.3.1 Naprava za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo	12
3.3.2 Metodologija merjenja vedenjskega odziva na svetlobo	14
3.4 ANALIZA PODATKOV	15
4 REZULTATI.....	17
5 RAZPRAVA.....	24
5.1 VEDENJSKI ODZIV NA SVETLOBO IN DISTRIBUCIJA POSTRANIC	24
5.2 EVOLUCIJA FOTOFOBNEGA VEDENJA PRI PODZEMELJSKIH VRSTAH ..	25
6 SKLEPI	26
7 POVZETEK.....	27
8 LITERATURA	28

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Seznam lokacij vzorčenja sobivajočih površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih (<i>Niphargus</i>) vrst postranic	9
Pregl. 2: Primerjava vpliva zaporedja in tipa aklimacije na vedenjski odziv na svetlobo pri površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih vrstah postranic (<i>Niphargus</i>).....	18
Pregl. 3: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med sobivajočimi vrstami površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih postranic (<i>Niphargus</i>).....	19
Pregl. 4: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med površinskim in podzemeljskim ekotipom postranic	22
Pregl. 5: Vrednosti PR ₇₅ površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih postranic (<i>Niphargus</i>).....	23
Pregl. 6: Vrednosti PR ₇₅ površinskega in podzemeljskega ekotipa postranic	23

KAZALO SLIK

Sl. 1: Shematični prikaz analitičnih pristopov k razlagi distribucije.....	5
Sl. 2: Lokacije vzorčenja sobivajočih površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih (<i>Niphargus</i>) vrst postranic.....	10
Sl. 3: Protokol aklimiranja sobivajočih vrst postranic na različne svetlobne režime.....	11
Sl. 4: Naprava za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo	13
Sl. 5: Potek merjenja vedenjskega odziva na svetlobo	14
Sl. 6: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med sobivajočimi vrstami površinskih (<i>Gammarus</i> , <i>Echinogammarus</i>) in podzemeljskih postranic (<i>Niphargus</i>).....	21
Sl. 7: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med površinskim in podzemeljskim ekotipom postranic	22

KAZALO PRILOG

Pril. A: Seznam lokacij vzorčenja sobivajočih površinskih in podzemeljskih postranic	
Pril. B: Fizikalni in kemijski parametri izmerjeni na lokacijah vzorčenja	
Pril. C: Drevo filogenetskih odnosov površinskih in podzemeljskih postranic	
Pril. D: Kontrola metodologije merjenja vedenjskega odziva na svetlobo	
Pril. E: Vpliv odstopanj v jakosti svetlobe na meritve vedenjskega odziva	
Pril. F: Časovna dinamika vedenjskega odziva na svetlobo pri sobivajočih postranicah	

1 UVOD

Distribucija vrst je ena izmed osrednjih tem v raziskovanju biodiverzitete in je v zadnjem desetletju v ospredju makroekoloških raziskav (Holt in Keitt, 2005; Sexton in sod., 2009; Jetz in sod., 2012; Kubisch in sod., 2014). Distribucija vsake vrste je tesno povezana z njeno ekološko nišo (Wiens, 2011), kombinacijo abiotskih in biotskih dejavnikov, v okviru katerih vrsta lahko preživi in se razmnožuje (Hutchinson, 1957). Za preživetje vsakega posameznika je zato ključno razlikovanje med optimalnimi in suboptimalnimi habitati (Jones, 2001), ki ga omogoča mehanizem izbire habitata. Gre za nabor hierarhično urejenih vedenj, ki osebkem omogočajo orientacijo vzdolž gradientov okoljskih dejavnikov in preprečujejo naključno disperzijo v suboptimalno okolje (Morris, 2003). Izbira habitata se tekom evolucije razvije skupaj z ekološko nišo (Ravigné in sod., 2009) in tako ključno povezuje ekološko nišo in geografsko razširjenost vrste (Binckley in Resetarits, 2005). Vedenjski odziv na okoljske dejavnike zato lahko pomembno prispeva k razumevanju vzorcev vrstne pestrosti (Resetarits, 2005).

Vzorci vrstne pestrosti se še posebej močno spremenijo vzdolž ostrih gradientov okoljskih dejavnikov, ki so še zlasti značilni za ekotone, kakor imenujemo stičišča različnih ekosistemov (Risser, 1995; Carroll in Thorp, 2014). Eno izmed izrazitih sprememb vzorcev vrstne pestrosti zasledimo na prehodu iz površinskega v podzemeljsko okolje, kjer se vodna favna močno spremeni na razdalji nekaj deset do sto metrov. Pri tem je izmenjava površinske in podzemeljske favne nesimetrična – manj specializirana površinska favna zaide razmeroma globoko v podzemlje (Sket, 1977; Sket, 1985), na podzemlje specializirana favna pa je na površju prisotna le v neposredni bližini podzemlja (Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007).

Ekološki dejavniki, ki določajo zgoraj opisano izmenjavo favne, so slabo poznani. Širjenje površinske favne globlje v podzemlje verjetno omejujejo njihova na temo neprilagojena čutila (Culver in Pipan, 2009), kot tudi fiziološki stres zaradi teme (Riesch in sod., 2011) ter pomanjkanje hrane (Hüppop, 2000). Slabše razumemo dejavnike, ki določajo distribucijo podzemeljske favne. Nekateri avtorji kot glavna dejavnika, ki podzemeljskim vrstam onemogočata disperzijo v površinske habitate, izpostavljajo kompeticijo in predacijski pritisk površinske favne (Sket, 2008), česar laboratorijski poskusi še niso nedvomno potrdili (Luštrik in sod., 2011). Drugi avtorji menijo, da ima osrednjo vlogo pri preprečevanju disperzije na površje svetloba (Pipan in Culver, 2012). Zaradi reduciranih

zaščitnih pigmentov v integumentu so podzemeljske vrste precej ranljive, saj svetloba lahko povzroči fiziološki stres (Simčič in Brancelj, 2007) in celo smrt (Ginet, 1960). Kljub temu v površinskih habitatih pogosto najdemo stalne populacije podzemeljskih vrst, ki sobivajo s površinsko favno (Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007).

Čeprav slabo razumemo vpliv posameznih dejavnikov na izmenjavo favne smemo sklepati, da se je, tako pri predstavnikih površinske kot podzemeljske favne, skozi evolucijo pri njih razvil mehanizem izbire habitata, ki preprečuje disperzijo v suboptimalen habitat (Doligez in Boulinier, 2008). Predvidevamo, da ima pri izbiri habitata pomembno vlogo svetloba (Fišer in sod., 2014), saj najostreje razmejuje podzemeljsko in površinsko okolje (Pipan in Culver, 2012), kar bi lahko osebkem omogočilo jasno prepoznavo ustreznega habitata. V prid tej domnevi govori dejstvo, da se mnoge podzemeljske vrste, navkljub delno ali celo popolnoma reduciranim očem, ob izpostavljenosti svetlobi odzovejo fotofobno (Langecker, 1992; Borowsky, 2011; Friedrich in sod., 2011).

Namen magistrske naloge je ugotoviti, ali z vedenjskim odzivom na svetlobo, kot delom mehanizma izbire habitata, lahko pojasnimo ostro prostorsko razmejitev površinskih in podzemeljskih vrst. Vedenjski odziv podzemeljskih vrst smo primerjali z odzivom kompeticijsko močnejših površinskih vrst, ki z njimi sobivajo na stičišču obeh ekosistemov. Za testne organizme smo izbrali sladkovodne postranice (Crustacea: Amphipoda), ki so pogost in neredko dominanten del površinske in podzemeljske sladkovodne favne (Väinölä in sod., 2008). V Evropi pogosto najdemo v izvirihih sobivajoče predstavnike površinskih (rodova *Gammarus* in *Echinogammarus*) in na podzemlje specializiranih slepih postranic (rod *Niphargus*) (Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007). Če je svetlobni gradient bistveno vplival na evolucijo njihove izbire habitata, lahko predpostavimo, da (1) bodo za svetlobo ranljive podzemeljske postranice iz rodu *Niphargus* izkazale močno fotofobno vedenje, medtem ko se bodo (2) na površje prilagojene postranice iz rodu *Gammarus* in *Echinogammarus* na svetlobo odzvale fotonevtralno ali celo fotofilno.

2 PREGLED OBJAV

2.1 EKOLOŠKA NIŠA IN DISTRIBUCIJA

Naravoslovci v začetku 20. stoletja so mehanizme, ki vplivajo na distribucijo vrst, poskušali razložiti z naborom okoljskih dejavnikov, ki določajo preživetje vrste. Tako je nastal pojem ekološke niše, znotraj katerega sta se izoblikovala dva, navidezno ločena koncepta. Grinnellov koncept ekološko nišo enači s tistimi abiotskimi dejavniki, znotraj katerih vrsta lahko preživi (Soberón, 2007; Peterson in sod., 2011). Nasprotno Eltonov koncept izpostavlja vpliv biotskih dejavnikov na distribucijo vrste, pri čemer naj bi ekološko nišo določale medvrstne interakcije (Chase in Leibold, 2003; Soberón, 2007).

Gordijski vozal med navidezno ločenima konceptoma je presekala Hutchinson (1957), ki je v redefiniciji ekološke niše združil oba pogleda. Ekološko nišo je definiral kot multidimenzionalni hiperprostor, katerega dimenzije so določene z abiotskimi in biotskimi dejavniki, ki kakorkoli vplivajo na organizem. Meje prostora predstavlja nabor vrednosti, ki odražajo meje ekološke tolerance vrste (Blonder in sod., 2014). Ekološka niša je s tem postala lastnost vrste (Colwell in Rangel, 2009) in ni več zgolj posledica abiotskih ali biotskih dejavnikov. Teoretični prostor, v katerem je vrsta genetsko prilagojena na vse abiotske dejavnike in kjer bi, ob odsotnosti drugih vrst, lahko obstajala neskončno dolgo, imenujemo temeljna niša (Hutchinson, 1957; Araújo in Guisan, 2006).

Vendar vrste ne zasedajo zgolj prostora, ki je z vidika abiotskih in biotskih dejavnikov zanje optimalen. Pulliam (2000) je razkorak med teoretično in dejansko distribucijo razložil z različno disperzijsko sposobnostjo vrste in demografsko dinamiko populacij. Zaradi omejene zmožnosti disperzije vrste ne morejo zasesti vseh primernih prostorov. Po drugi strani lahko vrste zaradi neugodnih demografskih trendov izumrejo v zanje optimalnem habitatu. Nenazadnje, nekatere populacije najdemo v suboptimalnih habitatih zaradi disperzije iz območja demografskega presežka. Sodobna sinteza Hutchinsonovega koncepta zato pri razlagi distribucije, poleg abiotskih in biotskih dejavnikov, vključuje še demografsko dinamiko populacije in disperzijsko sposobnost vrste (Anderson, 2013). Prostor, ki ga vrste v naravi dejansko zasedajo, se imenuje realizirana niša (Hutchinson, 1957; Araújo in Guisan, 2006).

2.2 PROBLEMATIKA PREUČEVANJA DISTRIBUCIJE VRST

Kljub napredku v teoretičnem razumevanju niše večina raziskav v zadnjem desetletju distribucijo in biodiverzitetu še vedno razlaga zgolj z omejenim naborom dejavnikov ter v omejenem geografskem razponu, bodisi na lokalni ali regionalni ravni (Kubisch in sod., 2014; Meineri in sod., v tisku). Pri tem sta se posebej uveljavila korelacijski in mehanicistični pristop (Dormann in sod., 2012).

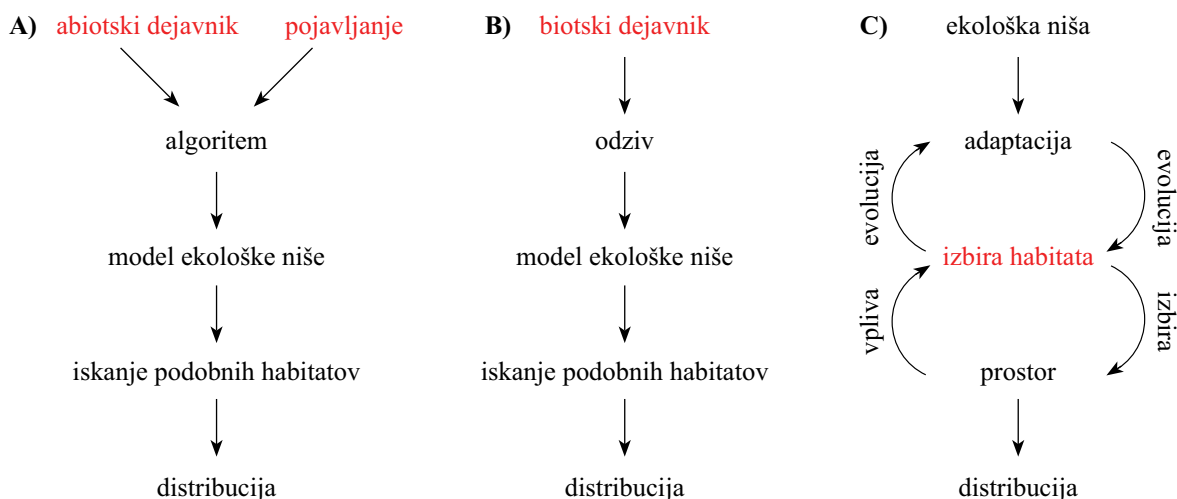
Korelacijski pristop (Slika 1.A) temelji na Grinnellovem konceptu niše in distribucijo vrst razlaga z abiotskimi dejavniki, največkrat s klimatskimi parametri, kot je npr. minimalna temperatura ali povprečna količina padavin (Guisan in Zimmermann, 2000; Guisan in Thuiller, 2005; Dormann in sod., 2012). Ker abiotske dejavnike relativno enostavno izmerimo, se je korelacijski pristop uveljavil pri analizi distribucije na regionalni geografski ravni. Vendar abiotski dejavniki večinoma niso zadosti nadrobni, da bi pojasnili vzorce vrstne pestrosti na lokalni ravni (Andreson, 2013). Dodatna pomanjkljivost korelacijskega pristopa je tudi, da temelji na statičnih vzorcih distribucije in ne vključuje niti fizioloških zahtev posamezne vrste niti procesov, kot so medvrstne interakcije, populacijska dinamika in disperzija (Cabral in Kreft, 2012). Zato s tem pristopom ne moremo razumeti procesov, ki vplivajo na distribucijo vrste (Dormann in sod., 2012).

Mehanicistični pristop (Slika 1.B) temelji na Eltonovem konceptu niše in poudarja pomen dinamičnih biotskih dejavnikov, kot so npr. fiziološke potrebe (Kearney in Porter, 2009), medvrstne interakcije (Wisz in sod., 2013) in populacijska dinamika (Pagel in Schurr, 2012). Vendar uporabnost mehanicističnega pristopa omejuje zahtevno merjenje biotskih dejavnikov, ki zahteva obsežno poznavanje biologije preučevane vrste (Holt, 2009) ter časovno in finančno zahtevne eksperimente (Anderson, 2013). Biotske dejavnike zato lahko izmerimo le v manjšem geografskem obsegu, zaradi česar ne moremo pojasniti vzorcev vrstne pestrosti na regionalni ravni.

Ovira k celostnemu razumevanju vzorcev vrstne pestrosti je tako analitične narave, saj z uporabo delnega nabora dejavnikov naše razumevanje distribucije omejimo na določen geografski okvir (Sóberon, 2007). Razkorak v razumevanju lokalne in regionalne distribucije bi lahko premostili s poznavanjem mehanizmov, ki delujejo na lokalni ravni in znatno vplivajo na vzorce vrstne pestrosti na regionalni ravni. Eden od mehanizmov, ki domnevno premošča lokalno in regionalno raven, je izbira habitata (Resetarits, 2005). Slednja ostaja pri razlagi distribucije vrst pogosto prezrta (Roever in sod., 2014).

2.3 IZBIRA HABITATA

Bistvena za preživetje vsakega osebka je sposobnost prepoznave okolja, v katerem lahko obstane. Prepoznavo omogoča mehanizem izbire habitata (Morris, 2003). Gre za nabor hierarhično urejenih vedenj (Jones, 2001), s katerimi osebek izbira med habitati, v katerih bo njegov fitnes najvišji (Doligez in Boulinier, 2008). Povedano drugače, izbira habitata osebku omogoča prepoznavo zanj optimalnega in preprečuje disperzijo v suboptimalno okolje. Izbira habitata se skozi evolucijo razvije skupaj z adaptacijo na lokalne okoljske razmere (Ravigné in sod., 2009) in tako ključno povezuje ekološko nišo in geografsko razširjenost vrste (Binckley in Resetarits, 2005). Distribucija je v tem pogledu le prostorski odraz izbire habitata (Slika 1.C) (Hamilton, 2010). Okoljski dejavniki, ki najizraziteje opredeljujejo optimalen habitat določene vrste, imajo verjetno največjo informacijsko vrednost pri orientaciji osebka v prostoru in so najbrž pomembno prispevali k evoluciji mehanizma izbire habitata (Doligez in Boulinier, 2008). Poznavanje posameznega vedenjskega odziva na določen okoljski dejavnik zato lahko pomembno prispeva k razumevanju distribucije vrste (Binckley in Resetarits, 2005; Resetarits, 2005; Roever in sod., 2014).



Slika 1: Shematični prikaz analitičnih pristopov k razlagi distribucije. Korelacijski pristop (A) z algoritmom poišče vzročne povezave med abiotičnimi dejavniki in pojavljanjem vrste, na podlagi česar izračuna model ekološke niše. Mehanicistični pristop (B) model ekološke niše izračuna na podlagi odziva na določen biotski dejavnik. Pri obeh pristopih se model uporablja pri iskanju podobnih habitatov in razlagi distribucije. Razlaga distribucije na podlagi vedenja temelji na dejstvu, da izbira habitata (C) osebku omogoča prepoznavo optimalnega prostora. Distribucija je torej prostorski odraz izbire habitata (povzeto po Andreson, 2013; Dormann in sod., 2012; Meineri in sod., v tisku).

2.4 IZVIR KOT MODELNI SISTEM ZA PREUČEVANJE IZBIRE HABITATA

Mehanizem izbire habitata je smiselno preučevati v okolju s heterogenimi okoljskimi dejavniki, saj bo izbira habitata močnejše izražena tam, kjer mora osebek aktivno izbirati med optimalnimi in suboptimalnimi pogoji (Doligez in Boulinier, 2008). Dobro priložnost za preučevanje mehanizma izbire habitata v odvisnosti od posameznih okoljskih dejavnikov ponujajo ekotoni. Kot stičišče dveh ekosistemov jih zaznamujejo fizikalni, kemijski in biotski gradienti, vzdolž katerih se izrazito spremenijo vzorci vrstne pestrosti (Risser, 1995; Cadenasso in sod., 2003; Ries in sod., 2004).

Ena izmed izrazitih sprememb vzorcev vrstne pestrosti se zgodi na prehodu površinskega v podzemeljski ekosistem (Carroll in Thorp, 2014). Vodna favna se v ekotonu med površjem in podzemljem močno spremeni na razdalji nekaj deset do sto metrov (Sket, 1977; Sket, 1985), a mehanizem, ki določa spremembo vzorca vrstne pestrosti, še ni znan. Pogost in neredko dominanten del evropske sladkovodne favne so površinske (rodova *Gammarus* in *Echinogammarus*) in podzemeljske vrste postranic (rod *Niphargus*) (Väinölä in sod., 2008). Oba ekotipa postranic pogosto prideta v stik v ekotonih, kot so izviri, pritoki in povirni deli potokov (Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007).

Prisotnost površinskih postranic v izvirih ni nepričakovana. Tu sta kompeticijski in predacijski pritisk manjša kot v nižjih delih vodotokov, manjša so tudi nihanja okoljskih dejavnikov (White, 2012; Carroll in Thorp, 2014). A površinske postranice razmeroma redko zaidejo v podzemlje. Na temo neprilagojena čutila (Culver in Pipan, 2009), pomanjkanje hrane (Hervant, 1997; Hüppop, 2000) in fiziološki stres zaradi odsotnosti svetlobe (Riesch in sod., 2011) so najverjetneje dejavniki, ki preprečujejo površinskim vrstam širjenje v podzemeljske habitate.

Slabše razumemo prisotnost stalnih populacij podzemeljskih postranic na površju (Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007). V izvirih naj bi aktivno iskale hrano (Kureck, 1967), pri tem pa ni znano, kako uspejo tekmovati za iste vire hrane s številčnejšo in, domnevno, kompeticijsko uspešnejšo površinsko favno (Fišer in sod., 2010). Fiziološko so namreč podzemeljske postranice na površje slabo prilagojene (Sket, 2008). Imajo reducirane zaščitne pigmente v integumentu, zato izpostavljenost svetlobi lahko povzroči fiziološki stres (Simčič in Brancelj, 2007) in celo smrt (Ginet, 1960). Visoko smrtnost pri nekaterih vrstah lahko povzročijo tudi temperature, višje od 25 °C, ki jih nekateri vodotoki lahko dosežejo v poletnih mesecih (Issartel, 2005).

Pojavljanje specializiranih vrst izven njihovega specifičnega habitata je svojevrsten paradoks. Ključno vprašanje je, kateri mehanizmi omogočajo podzemeljskim specialistom izkoriščati prednosti površinskih habitatov, ne da bi jih pri tem prizadele fiziološke omejitve in domnevno škodljive medvrstne interakcije s površinsko favno.

2.5 SLEPE POSTRANICE IN SVETLOBA

Rod *Niphargus* Schiødte, 1847 (Crustacea: Amphipoda) je z več kot 300 opisanimi taksoni največji rod sladkovodnih postranic na svetu (Väinölä in sod., 2008). Vsi predstavniki rodu so troglobionti, kakor imenujemo na podzemlje specializirane vrste (Sket, 2008). Zaznamuje jih močno reduciran pigment v integumentu in popolnoma reducirane oči (Fišer, 2012), po čemer je rod dobil slovensko ime slepe postranice. Poseljujejo vse tipe podzemeljskih voda, od hipotelminoreika, podzemnih jezer, sistema epikraških špranj do intersticialnih, somornih, freatskih in termalnih voda, kot tudi površinske vode, kot so izviri, pritoki in povirni deli potokov (Sket, 1999; Fišer in sod., 2006; Fišer in sod., 2007). Zaradi velike pestrosti vrst, ki poseljujejo široko paleto vodnih habitatnih tipov, so postale slepe postranice zanimivi modelni organizmi v ekoloških in evolucijskih raziskavah (Fišer, 2012).

Pipan in Culver (2012) predvidevata, da pomanjkanje hrane in odsotnost sezonskih nihanj abiotskih dejavnikov nista glavna selekcijska dejavnika v podzemlju, ampak naj bi največjo vlogo pri evoluciji troglomorfnihih znakov imela ravno odsotnost svetlobe. Popolna tema naj bi pomembno prispevala tudi k reproduktivni izolaciji (Riesch in sod., 2011). Zanimivo je, da so mnogi troglobionti sposobni zaznati svetlobo, četudi imajo delno ali celo popolnoma reducirane oči (Ginet, 1960; Langecker, 1992; Friedrich, 2011). Nekaj skopih, a zanimivih raziskav je bilo narejenih tudi na slepih postranicah.

Ginet (1960) je osebkke podvrste *Niphargus orcinus virei* Chevreux izpostavil neprekinjeni osvetlitvi z jakostjo 20 000 lux in že po 72 urah zabeležil 100 % smrtnost. Nadalje je živali iste vrste izpostavil različnim kombinacijam modre, zelene, oranžne, rumene in rdeče monokromatične svetlobe, pri čemer so se osebkke lahko prosto gibali med različnimi osvetlitvami. Živali so imele močno preferenco do tiste osvetlitve, ki je imela v dani kombinaciji monokromatičnih svetlob največjo valovno dolžino. Svetloba z večjo valovno dolžino ima namreč manjšo energijo in je verjetno za nepigmentirano žival manj stresna. Najmočnejšo preferenco so živali pokazale do rdeče monokromatične svetlobe.

Müller in sod. (1963), Müller (1966) in Kureck (1967) so med prvimi zabeležili diurnalno ritmiko pri troglobiotskih nevretenčarjih. Opazili so, da je številčnost osebkov podvrste *Niphargus aquilex schellenbergi* Karaman podnevi v potoku nizka, medtem ko ponoči občutno naraste. Kureck (1964) je pri isti podvrsti analiziral odziv na svetlobo in zabeležil fotofobno vedenje pri relativno nizkem vzdražnem pragu $3,5 \text{ lm m}^{-2}$, pri tem pa so bili osebki sposobni razlikovati med različnimi jakostmi svetlobe, a le če je razlika v osvetljenosti znašala več kot 17 %. Najizrazitejši odziv živali na svetlobo je bil izmerjen pri valovni dolžini 515 nm. Ker ima rodopsin podoben absorpcijski vrh, je Kureck (1964) sposobnost zaznavanja svetlobe pri slepih postranicah pripisal prav temu proteinu.

Novejših študij, opravljenih na slepih postranicah, ni. Izjema je le študija (Borowsky, 2011), ki je pri postranici *Niphargus frasassianus* Karaman, Borowsky & Dattagupta, 2010, potrdila fotofobno vedenje, a ni dokazala prisotnosti dorzalnega refleksa na svetlobo, kot tudi ne pri vrsti *Niphargus ictus* Karaman G., 1985. Dorzalni refleks vodnim živali pomaga pri ravnotežju v vodnem stolpcu. Odsotnost refleksa pri slepih postranicah kaže, da svetloba najbrž nima vloge pri ohranjanju ravnotežja, vlogo ravnotežnega organa pa so najbrž prevzele statociste (Borowsky, 2011).

Navkljub relativno dolgi zgodovini preučevanja fotofobnega vedenja podzemeljskih živali fenomen slabo razumemo v širšem evolucijskem in ekološkem kontekstu. Čeprav imajo predstavniki rodu *Niphargus* oči reducirane že več kot 30 milijonov let (Jażdżewski in Kupryjanowicz, 2010), so sposobnost zaznavanja svetlobe očitno ohranile vsaj nekatere vrste, kar kaže na določen evolucijski pomen svetlobe. Ker je svetlobni gradient eden izmed najostrejših okoljskih gradientov (Pipan in Culver, 2012), ki ločuje površje in podzemlje, bi fotofobno vedenje lahko pomembno prispevalo k orientaciji postranic v prostoru in bistveno pripomoglo k izbiri zanje ustreznega habitata.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 IZBOR VRST IN VZORČENJE

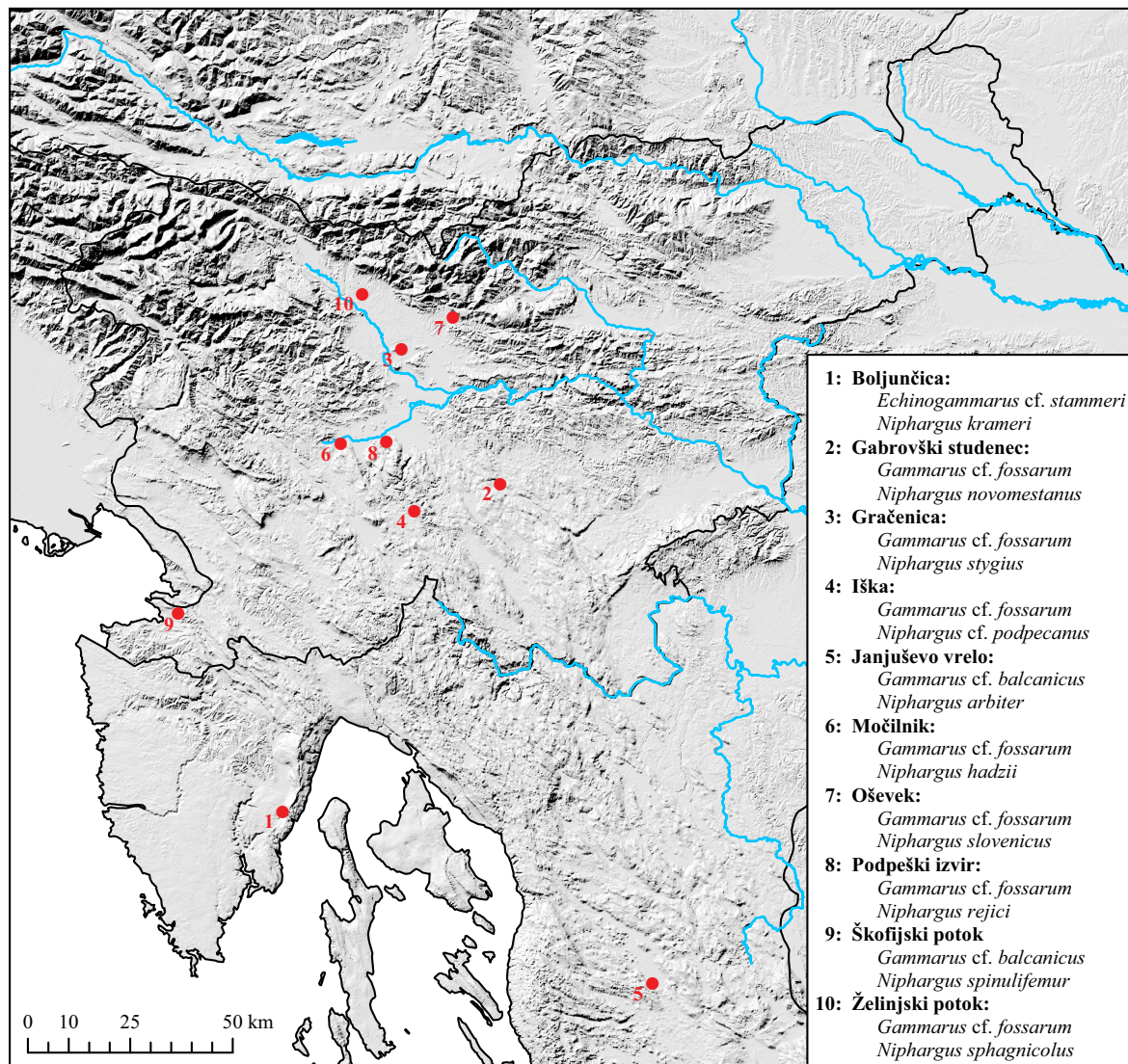
V raziskavo vpliva vedenja na distribucijo vrst smo vključili deset vrst podzemeljskih postranic iz rodu *Niphargus*, ki sobivajo s površinskimi postranicami iz rodov *Gammarus* in *Echinogammarus* v ekotonih med površinskim in podzemeljskim habitati, kot so izviri, manjši pritoki in povirni deli potokov (Preglednica 1; Slika 2; Priloga A).

Morebitno filogenetsko psevdoreplikacijo (Garland, 2001) smo znotraj rodu *Niphargus* zmanjšali z izborom manj sorodnih, nesestrskih taksonov (Priloga C). V kolikšni meri smo se temu izognili pri površinskih postranicah, ni znano, saj so slednje zelo slabo taksonomsko preučevana skupina. Večina populacij iz slovenskih površinskih voda sicer pripada kompleksu *Gammarus* cf. *fossarum* in *Gammarus* cf. *balcanicus*, vendar novejša raziskave kriptične biodiverzitetete površinskih postranic (Mamos in sod., 2014; Weiss in sod., 2014) razkrivajo, da gre za skupek večih, manj sorodnih vrst.

Živali smo nabirali z neinvazivnimi metodami nabiranja (vrše, ročno prebiranje listja, mreže), s čimer smo preprečili morebitne poškodbe. Nabirali smo le odrasle živali obeh spolov. Na vsaki lokaciji smo odvzeli vodo in substrat (kamenje, prod, vejice, listje, mah) ter izmerili osnovne fizikalne in kemijske parametre vode (Priloga B). Živali smo prenesli v jamski laboratorij (Katedra za zoologijo nevretenčarjev, Oddelek za biologijo) najkasneje v 24 urah. Da bi preprečili temperaturna nihanja in izpostavljenost svetlobi, smo živali med

Preglednica 1: Seznam lokacij vzorčenja sobivajočih površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih (*Niphargus*) vrst postranic.

lokacija	habitatni tip	datum	površinska postranica	podzemeljska postranica
Boljunčica	sekundarni izvir	31.3.2014	<i>E. cf. stammeri</i>	<i>N. krameri</i>
Gabrovški studenec	primarni izvir	10.4.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. novomestanus</i>
Gračenica	pritok	16.1.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. stygius</i>
Iška	pritok	8.1.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. cf. podpecanus</i>
Janjuševo vrelo	primarni izvir	26.6.2014	<i>G. cf. balcanicus</i>	<i>N. arbiter</i>
Močilnik	primarni izvir	20.5.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. hadzii</i>
Oševsek	pritok	13.3.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. slovenicus</i>
Podpeški izvir	primarni izvir	20.5.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. rejici</i>
Škofijski potok	povirni del potoka	12.3.2014	<i>G. cf. balcanicus</i>	<i>N. spinulifemur</i>
Želinjski potok	izvir	20.6.2014	<i>G. cf. fossarum</i>	<i>N. sphagnicolus</i>

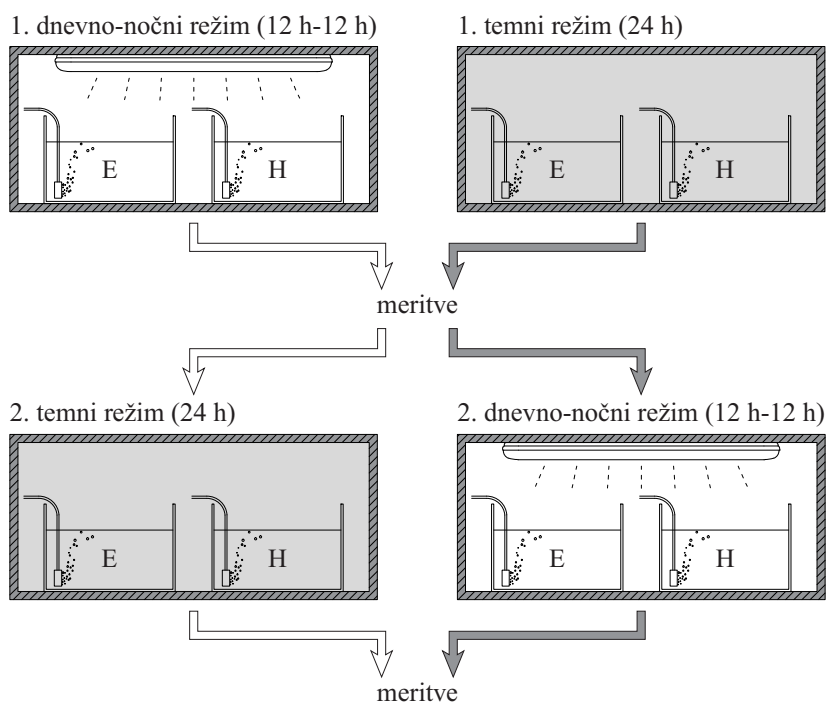


Slika 2: Lokacije vzorčenja sobivajočih površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih (*Niphargus*) vrst postranic. Vzorčenje je potekalo na izbranih lokacijah v Sloveniji in na Hrvaškem.

transportom namestili v toplotno izolirano posodo, neprepustno za svetlobo. V jamskem laboratoriju, termostatanem na 10 °C, smo osebkje vsake vrste postranic naključno razdelili v dve enako številčni skupini in jih nato aklimirali na dva različna svetlobna režima (glej poglavje 3.2). Vsako skupino smo namestili v 1,5 l prezračevan akvarij z vodo in substratom z mesta nabiranja, ki je živalim med aklimacijo služil kot vir hrane in skrivališče.

3.2 AKLIMACIJA

Nekateri predstavniki slepih postranic imajo izraženo diurnalno ritmiko (Müller in sod., 1963; Müller, 1966; Kureck, 1967). Ker ni jasno, kako slednja vpliva na osnovne fiziološke procese in vedenje, smo osebkje vsake vrste naključno razdelili v dve enako številčni skupini: eno skupino smo aklimirali na dnevno-nočni svetlobni režim (12 h-12 h), aklimacija druge skupine pa je potekala v temi (24 h) (Slika 3). Aklimaciji sta potekali sočasno v namenskih komorah v jamskem laboratoriju pri 10 °C. Za vir svetlobe v dnevno-nočni aklimacijski komori smo uporabili 18 W fluorescentno sijalko (Osram FD T26 L 18W-954 G13 Daylight), ki posnema spekter naravne svetlobe, ima temperaturo barve 5400 K in indeks barvnega odražanja CRI > 90. Jakost svetlobe v komori je znašala 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Meritve vedenjskega odziva na svetlobo smo izvedli sedmi dan aklimacije. Odziv živali, aklimiranih na dnevno-nočni svetlobni režim, smo izmerili v temni fazi cikla. Po meritvah smo živali ponovno aklimirali, a smo pri tem skupinama zamenjali svetlobni režim. S tem smo želeli preveriti morebiten vpliv vrstnega reda aklimacije na vedenjski odziv. Sedmi dan spremenjenega režima aklimacije smo ponovili meritve.



Slika 3: Protokol aklimiranja sobivajočih vrst postranic na različne svetlobne režime. Površinsko (E) in podzemeljsko vrsto (H) smo v namenskih komorah sedem dni sočasno aklimirali na dnevno-nočni svetlobni režim (12 h-12 h) in temni režim (24 h). Sledile so meritve vedenja. Nato smo živali ponovno aklimirali, tokrat pri spremenjenem svetlobnem režimu. Sedmi dan aklimiranja smo ponovili meritve.

3.3 MERJENJE VEDENJSKEGA ODZIVA NA SVETLOBO

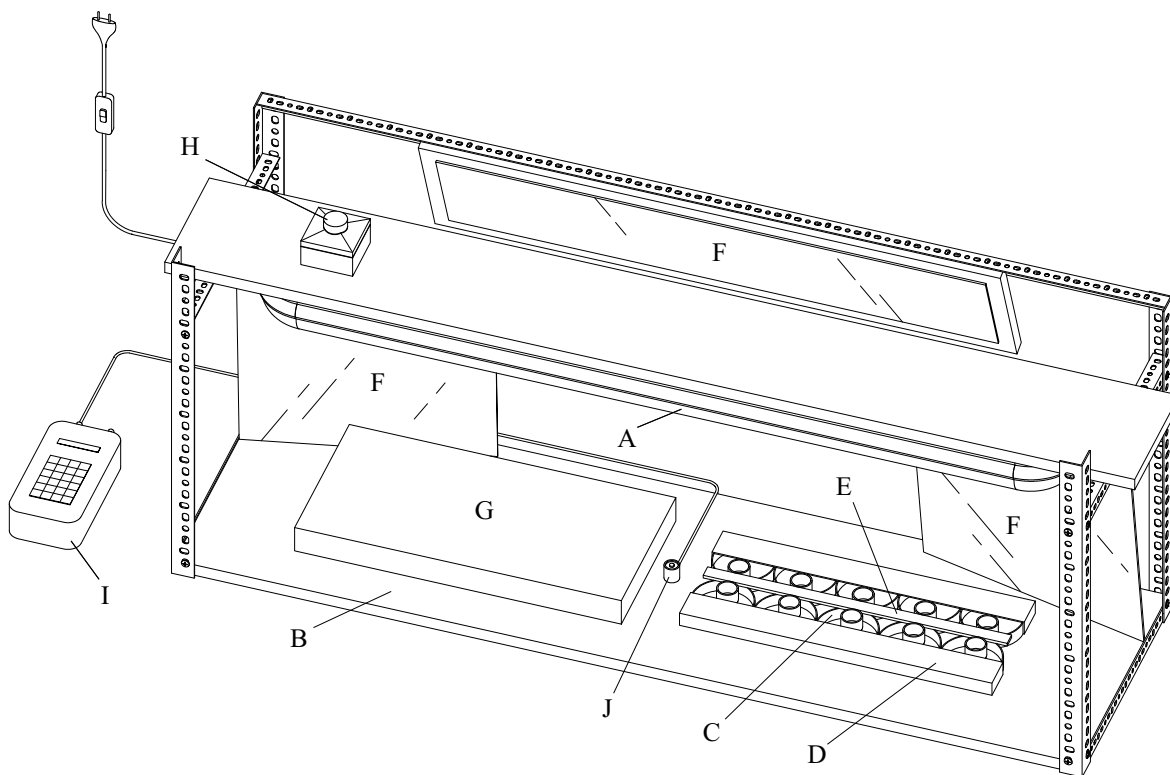
Napravo in metodologijo za merjenje odziva na svetlobo smo priredili po Borowsky (2011) ter Friedrich in sod. (2011) in preizkusili na vrstah z že znanim odzivom (Priloga D). Princip tako zasnovanega pristopa je ponuditi opazovanemu osebkju možnost izbire med osvetljenim in zatemnjenim prostorom. Na podlagi izkazane preference smo nato kvantificirali vedenjski odziv.

3.3.1 Naprava za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo

Naša naprava za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo v osnovi sestoji iz vira svetlobe in posode, razdeljene na osvetljeno in zatemnjeno polovico, v katero namestimo žival. Za vir svetlobe (Slika 4.A) smo izbrali dve 36 W fluorescentni sijalki (Osram FD T26 L 36W-954 G13 Daylight), ki posnemata spekter naravne svetlobe, imata temperaturo barve 5400 K in indeks barvnega odražanja $CRI > 90$. Efekt utripanja smo omejili z elektronsko predstikalno napravo (Osram HF 2x36W 230-240V DIM T8 De Luxe), ki omogoča takojšen prižig fluorescentnih sijalk in zagotavlja frekvenco utripanja sijalk nad 25 kHz, kar je približno dvestokrat višja frekvenca od najvišje fuzijske frekvence, zabeležene pri fasetnem očesu rakov (Meyer-Rochow, 2001). Svetilo (Unolux UX-Simple TS-FD 2x36W G13 EEI=A2 Electronic) s sijalkama je bilo nameščeno 40 cm nad delovno ploščo (Slika 4.B), s čimer smo preprečili segrevanje vode. Svetlobno polje v območju meritev je bilo homogeno in je pri poljubni jakosti svetlobe odstopalo za manj kot 10 % (Priloga E). Na delovno ploščo smo pritrdili petrijevke s premerom 100 mm in višino 20 mm (Slika 4.C), čez katere smo namestili pokrov (Slika 4.D), ki jih je razdelil na dva enako velika dela – osvetljeno in zatemnjeno polovico. Da bi preprečili lom in prehod svetlobe po steklu v zatemnjeno polovico petrijevke, smo petrijevke v celoti premazali s črno barvo. S premičnimi pregradami (Slika 4.E) smo živali pred meritvami omejili na osvetljeno stran petrijevke. Med meritvami smo si opazovanje živali olajšali z zrcali (Slika 4.F). Ko nismo izvajali meritev, smo čez petrijevke poveznili zaslon (Slika 4.G), s čimer smo preprečili osvetlitev živali.

Jakost svetlobe smo uravnavali z logaritemskim potenciometrom (Osram HF DIM P MCU) (Slika 4.H), ki je omogočal nastavitvev poljubne jakosti svetlobe v razponu od 0 do $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Razpon jakosti smo izbrali na podlagi vrednosti, zabeleženih na lokacijah vzorčenja živali (lastne meritve), ter literature o svetlobnih razmerah v zasenčenih sestojih

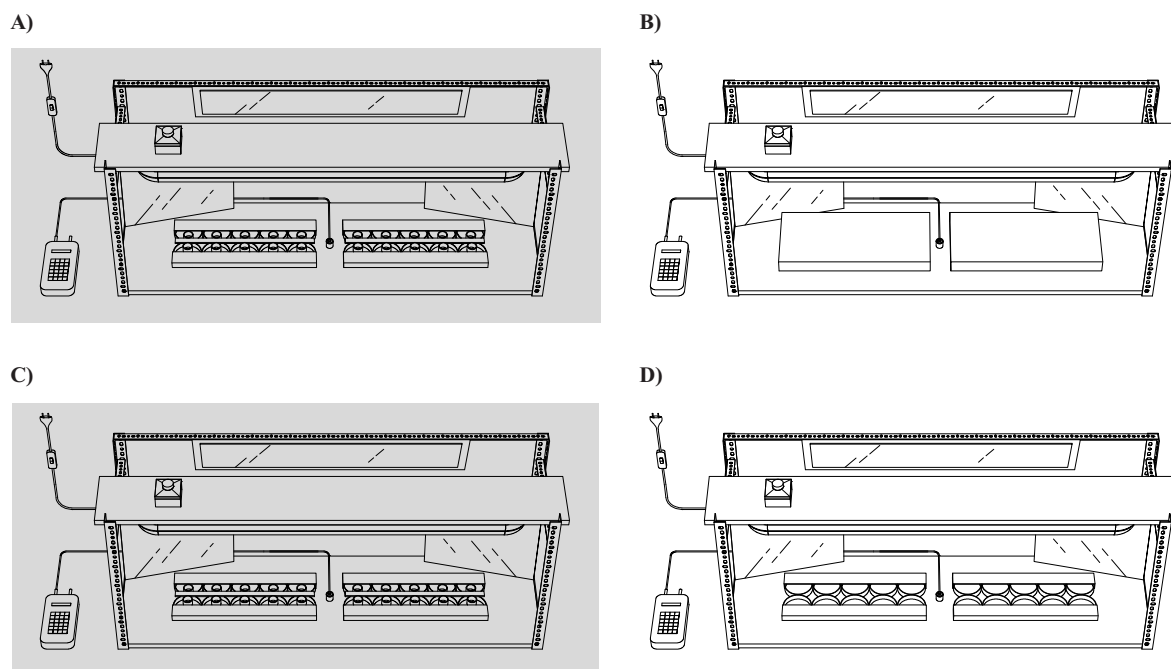
(Endler, 1993; Carroll in Thorp, 2014), saj slepih postranic ne najdemo na mestih, izpostavljenih neposredni sončni svetlobi (Fišer in sod., 2014). Za delo v temi smo uporabili šibko ($0,01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) svetlobo v rdečem spektru, ki je izven zaznavnega območja rakovega očesa (Marshall in sod., 1999). Jakost svetlobe smo merili s svetlometerom (Licor Li-1000 Data Logger) (Slika 4.I), čigar tipalo (LI-190 Quantum Sensor) (Slika 4.J) je bilo nepremično pritrjeno na sredino delovne plošče. Jakost svetlobe smo merili na valovni dolžini med 400 in 700 nm, kar je v razponu vidnega spektra slepih postranic (Kureck, 1964). S tem smo iz jakosti svetlobe izločili prispevek valovnih dolžin, ki so izven zaznavnega območja živali.



Slika 4: Naprava za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo. Naprava sestoji iz vira svetlobe (A), nameščenega 40 cm nad delovno ploščo (B), na kateri je bilo pritrjenih 20 črnih petrijevok (C). Čez polovico vsake petrijevke je bil nameščen pokrov (D), ki je razdelil petrijevke na osvetljeno in zatemnjeno polovico. Pred pričetkom meritev smo živali s premičnimi pregradami (E) omejili na osvetljeno stran petrijevke. Opazovanje živali smo si olajšali z zrcali (F). Ko nismo izvajali meritev, smo čez petrijevke poveznili zaslonko (G) in preprečili osvetlitev živali. Z logaritemskim potenciometrom (H) smo uravnavali jakost svetlobe, ki smo jo merili s svetlometerom (I) in pripadajočim tipalom (J).

3.3.2 Metodologija merjenja vedenjskega odziva na svetlobo

Meritve vedenjskega odziva na svetlobo so potekale v jamskem laboratoriju pri 10 °C in v odsotnosti vseh zunanjih virov svetlobe. Odziv na svetlobo smo merili pri petih jakostih svetlobe: 0,5, 5, 12,5, 25 in 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Za kontrolo nam je služila meritev, izvedena v temi. Vedenjski odziv smo merili sočasno na 10 osebkih površinske in 10 osebkih podzemeljske vrste, ki sobivata v površinskih habitatih in sta bili aklimirani na enak svetlobni režim (glej poglavje 3.2). Pred začetkom meritev smo v petrijevke nalili po 80 ml prezračene, na 10 °C ohlajene vode iz lokacije. V vsako petrijevko smo po naključnem izboru namestili po eno žival ter jo s pregrado omejili na osvetljeno polovico (Slika 5.A). Čez petrijevke smo nato poveznili zaslombi. Tako nameščene osebke smo pred vsako meritvijo pustili mirovati 15 minut. V tem času smo prižgali luč ter s svetlometerom nastavili jakost svetlobe na željeno vrednost (Slika 5.B). Pred koncem 15-minutne faze mirovanja smo luč ugasnili in odstranili zaslombo nad petrijevkami (Slika 5.C). Meritev se



Slika 5: Potek merjenja vedenjskega odziva na svetlobo. V temi smo v vsako petrijevko namestili po eno žival ter jo s pregrado omejili na svetlo polovico (A). Čez petrijevke smo poveznili zaslombo in živali pustili mirovati 15 minut. V tem času smo prižgali luč in s potenciometrom ter svetlometerom uravnali svetlobo na željeno jakost (B). Nato smo luč ugasnili ter odstranili zaslombo (C). Merjenje vedenjskega odziva na svetlobo se je pričelo s prižigom luči in odstranitvijo pregrad (D). Po 15 minutah smo zaključili z meritvami in ugasnili luč. Postopek smo ponovili (A–D) za vse jakosti svetlobe. Med kontrolno meritvijo nismo prižgali luči.

je pričela s prižigom luči in odstranitvijo pregrade. Ob tem se je žival lahko pričela prosto gibati. Vsakih 30 sekund smo zabeležili, ali se osebek nahaja na osvetljeni ali zatemnjeni strani petrijevke. Če se je osebek nahajal na meji med osvetljeno in zatemnjeno polovico, smo beležili, kot bi se nahajal na osvetljeni strani (Slika 5.D). Po 15 minutah smo zaključili z opazovanjem in ugasnili luč. Živali smo ponovno omejili na osvetljeno stran petrijevke in nato čeznje poveznili zaslombo (Slika 5.A). S tem se je zanje ponovno pričela 15-minutna faza mirovanja v temi. Celoten postopek smo z istimi živalmi ponovili za vseh pet jakosti svetlobe (Slika 5.A–D), v vrstnem redu od najnižje do najvišje jakosti. Med kontrolno meritvijo v temi je bil postopek enak, le da ob začetku merjenja nismo prižgali luči (Slika 5.D, brez prižiga luči). Med predpripravami na meritve, odvzemom živali iz komor, nameščanjem živali v pregrade ter posameznimi meritvami je bila luč za meritve ugasnjena, zato smo si delo v temi olajšali s šibko ($0,01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) svetlobo v rdečem spektru.

3.4 ANALIZA PODATKOV

Analizo podatkov smo opravili v programu R 3.0.3. (R Core Team, 2014). Podatke smo analizirali s posplošenim linearnim mešanim modelom (GLMM) z binomsko porazdeljenimi ostanki (binomial error distribution) in vezno funkcijo (link function) logit v R paketu lme4 (Bates in sod., 2014). Iz analize smo izločili podatke prvih petih minut meritev, saj odziv živali takrat še ni bil ustaljen (Priloga F). S tem smo preprečili morebitni vpliv raziskovalnega vedenja na analizo odziva na svetlobo. Delež časa, ki ga je osebek preživel v temnem delu petrijevke, smo obravnavali kot odvisno spremenljivko. Osebke smo obravnavali kot naključni učinek (random effect), pri čemer smo upoštevali naključno izhodišče (random intercept) in tudi naključni naklon (random slope). Izračunali smo štiri GLMM modele, za katere smo teste mnogoterih primerjav izračunali s funkcijo *glht* v R paketu multcomp (Hothorn in sod., 2008), pri čemer smo p-vrednosti popravili z metodo single-step.

V prvi model (M1) smo vključili štiri neodvisne spremenljivke: jakost svetlobe (zvezna spremenljivka), ekotip (površinski, podzemeljski), tip aklimacije (dnevno-nočna, temna) in zaporedje aklimacije (prva, druga), ter upoštevali vse njihove interakcije. Jakost svetlobe smo zaradi vrednosti $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sprva linearno transformirali (iz 0, 0,5, 5, 12,5, 25, 50 v 1, 10, 100, 250, 500, 1000) in nato še logaritmirali z desetiškim logaritmom.

Zaporedje aklimacije ni vplivalo na vedenjski odziv (glej poglavje 4; Preglednica 2), zato smo v drugem modelu (M2) to neodvisno spremenljivko izločili. Na vedenjski odziv ni vplival niti tip aklimacije (glej poglavje 4; Preglednica 2), zato smo v tretjem modelu (M3) izključili še to spremenljivko.

Napovedi tretjega modela smo uporabili za izračun vrednosti jakosti svetlobe (PR_{75}), pri kateri je verjetnost, da se osebek na svetlobo odzove fotofobno, enaka 0,75. Vrednosti PR_{75} smo izračunali za vsako vrsto posebej. Za izračun vrednosti PR_{75} površinskega in podzemeljskega ekotipa smo podatke vseh meritev združili glede na ekotip postranice. Za vrednosti PR_{75} smo izračunali 95 % interval zaupanja z metodo delta v R paketu msm (Jackson, 2011).

S četrtem modelom (M4) smo testirali, ali se odziva na svetlobo pri podzemeljskem in površinskem ekotipu postranic razlikujeta. Podatke vseh meritev smo združili glede na ekotip. Za neodvisni spremenljivki smo uporabili jakost svetlobe in ekotip (površinski, podzemeljski). Lokacije, ekotip znotraj lokacije in osebke smo obravnavali kot hierarhično organizirane naključne učinke (nested random effects), pri čemer smo upoštevali naključno izhodišče in naklon. Vse napovedi modelov in ostale grafe smo izrisali s funkcijami v R paketu ggplot2 (Wickham, 2009).

Opisani statistični modeli vedenjski odziv na svetlobo predstavijo z logistično krivuljo, pri čemer je vedenjski odziv podan kot verjetnost, da žival izbere zatemnjeno polovico petrijevke. Podobno kot premico tudi logistično krivuljo definiramo z dvema parametroma, izhodiščem in naklonom. V našem primeru izhodišče opisuje vedenjski odziv živali v temi (kontrolna meritev), pri čemer naključno izbiro med obema polovicama petrijevke predstavljajo statistično neznačilne vrednosti. Naklon logistične krivulje opisuje tip in moč vedenjskega odziva na svetlobo. Fotofobno vedenje predstavljajo statistično značilne pozitivne vrednosti naklona, fotofilno vedenje pa statistično značilne negativne vrednosti. Neznačilne vrednosti so interpretirane kot fotonevtralen odziv. Primerjava vedenjskih odzivov med različnima zaporedjema in tipoma aklimacije, med sobivajočima postranicama in ekotipoma je podana kot razlika v naklonu logističnih krivulj.

4 REZULTATI

Pri kontrolnih meritvah v temi je bil vedenjski odziv postranic rezultat naključne izbire med obema polovicama petrijevke. Le pri lokacijah Boljunčica, Gabrovški studenec in Iška so imele površinske postranice statistično značilno pozitivne vrednosti izhodišč (Preglednica 3). Ker pa so bila odstopanja zelo majhna, menimo, da je šlo zgolj za posledico statistične regresije in jim ne pripisujemo nobenega biološkega pomena.

Vse slepe postranice so se na svetlobo odzvale izrazito fotofobno. Nasprotno je bil odziv površinskih postranic večinoma fotonevtralen, le postranice z lokacije Boljunčica, Močilnik in Škofijski potok so izkazale šibko fotofobno vedenje (Preglednica 3; Slika 6). Kljub variabilnosti v vedenjskem odzivu se je vsaka vrsta slepih postranic na svetlobo odzvala statistično značilno bolj fotofobno kot površinska vrsta, s katero sobiva. Izrazito različna vedenjska odziva je potrdila tudi primerjava odzivov, združenih po ekotipu. Odziv površinskega ekotipa je bil namreč fotonevtralen, odziv podzemeljskega pa izrazito fotofoben (Preglednica 4; Slika 7).

Različen vedenjski odziv med sobivajočima vrstama postranic je bilo moč razbrati tudi iz jakosti svetlobe, pri kateri je verjetnost fotofobnega odziva testiranih osebkov enaka 0,75 (PR_{75}) (Preglednica 5). Vrednosti PR_{75} pri slepih postranicah so bile nizke in so se gibale med 0,22 in 3,42 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, z izjemo vrst *Niphargus cf. podpecanus* in *N. slovenicus*, pri katerih je PR_{75} presegal 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Vrednosti PR_{75} pri površinskih postranicah so bile precej višje in so pri vseh vrstah iz rodu *Gammarus* presegale 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, le *Echinogammarus cf. stammeri* je imel nekoliko nižjo vrednost, 11,26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Tudi podatki, združeni po ekotipu, potrjujejo različna vedenjska odziva. Podzemeljski ekotip je imel izrazito nizko vrednost PR_{75} , ki je znašala 0,77 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medtem ko je ta pri površinskem presegala 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Preglednica 6).

Zaporedje aklimacije kot tudi tip aklimacije nista bistveno vplivala na vedenjski odziv (Preglednica 2). Pri primerjavi vedenjskega odziva med različnimi zaporedji aklimacije sta le vrsti *N. arbiter* in *N. stygius* izkazali statistično značilen močnejši fotofoben odziv po drugi aklimaciji. Odziv med aklimacijami na različen svetlobni režim je bil statistično značilno različen le pri vrstah *N. arbiter*, *N. novomestanus* in *N. stygius*. Vse so bile po aklimaciji v temi bolj fotofobne kot po aklimaciji na dnevno-nočnem svetlobnem režimu. Pri preostalih vrstah ni bilo statistično značilnih razlik, zato sklepamo, da zaporedje in tip aklimacije nista bistveno vplivala na vedenje postranic.

Preglednica 2: Primerjava vpliva zaporedja in tipa aklimacije na vedenjski odziv na svetlobo pri površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih vrstah postranic (*Niphargus*). Analiza je opravljena z GLMM modelom M1, ki primerja vedenjska odziva med prvo (1.) in drugo (2.) aklimacijo ter modelom M2, ki primerja vedenjska odziva med različnima tipoma aklimacije (DN: dnevno-nočni svetlobni režim, T: tema). Pozitivne vrednosti označujejo večji naklon logistične krivulje po 1. aklimaciji oz. DN, negativne pa večji naklon po 2. aklimaciji oz. T. Ocene parametrov so izražene v logit skali s pripadajočimi p-vrednostmi.

lokacija	sobivajoči vrsti	1. DN – 2. DN	1. T – 2. T	DN – T
Boljunčica	<i>E. cf. stammeri</i>	-0,091 / 0,968	0,013 / 0,999	-0,109 / 0,143
	<i>N. krameri</i>	0,561 / 0,055 ⁺	-0,165 / 0,896	-0,084 / 0,671
Gabrovški studenec	<i>G. cf. fossarum</i>	0,240 / 0,517	-0,120 / 0,912	-0,018 / 0,944
	<i>N. novomestanus</i>	0,255 / 0,559	0,397 / 0,268	-0,434 / < 0,001 ^{***}
Gračenica	<i>G. cf. fossarum</i>	-0,104 / 0,902	-0,065 / 0,980	-0,110 / 0,106
	<i>N. stygius</i>	0,409 / 0,053 ⁺	-0,554 / 0,009 ^{**}	-0,182 / 0,043 [*]
Iška	<i>G. cf. fossarum</i>	-0,007 / 0,999	0,052 / 0,959	0,046 / 0,657
	<i>N. cf. podpecanus</i>	0,118 / 0,560	-0,156 / 0,278	-0,021 / 0,914
Janjuševo vrelo	<i>G. cf. balcanicus</i>	-0,159 / 0,725	0,065 / 0,983	-0,046 / 0,667
	<i>N. arbiter</i>	-0,480 / 0,037 [*]	0,306 / 0,373	-0,346 / < 0,001 ^{***}
Močilnik	<i>G. cf. fossarum</i>	0,044 / 0,991	-0,026 / 0,999	-0,041 / 0,720
	<i>N. hadzii</i>	-0,079 / 0,942	0,095 / 0,896	0,011 / 0,983
Oševek	<i>G. cf. fossarum</i>	0,024 / 0,999	0,017 / 0,999	0,003 / 0,998
	<i>N. slovenicus</i>	0,106 / 0,766	-0,017 / 0,999	-0,062 / 0,496
Podpeški izvir	<i>G. cf. fossarum</i>	-0,242 / 0,568	0,099 / 0,962	-0,010 / 0,983
	<i>N. rejici</i>	-0,529 / 0,230	0,161 / 0,938	-0,032 / 0,959
Škofijjski potok	<i>G. cf. balcanicus</i>	0,030 / 0,999	-0,378 / 0,072 ⁺	0,128 / 0,057 ⁺
	<i>N. spinulifemur</i>	0,176 / 0,687	-0,094 / 0,946	-0,052 / 0,677
Želinjski potok	<i>G. cf. fossarum</i>	-0,037 / 0,996	-0,196 / 0,352	-0,017 / 0,942
	<i>N. sphagnicolus</i>	0,128 / 0,761	0,293 / 0,090 ⁺	0,024 / 0,910

⁺ 0,05 < p < 0,1

^{*} 0,01 < p < 0,05

^{**} 0,001 < p < 0,01

^{***} p < 0,001

Preglednica 3: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med sobivajočimi vrstami površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih postranic (*Niphargus*). Analiza je opravljena z GLMM modelom M3. Izhodišče opisuje vedenjski odziv v temi, naklon pa tip in moč odziva na svetlobo. Razlika naklonov opisuje razliko v vedenjskem odzivu sobivajočih postranic, pri čemer pozitivne vrednosti razlik označujejo manj fotofoben, negativne pa bolj fotofoben odziv podzemeljske vrste glede na površinsko. Ocene parametrov so izražene v logit skali s pripadajočimi p-vrednostmi.

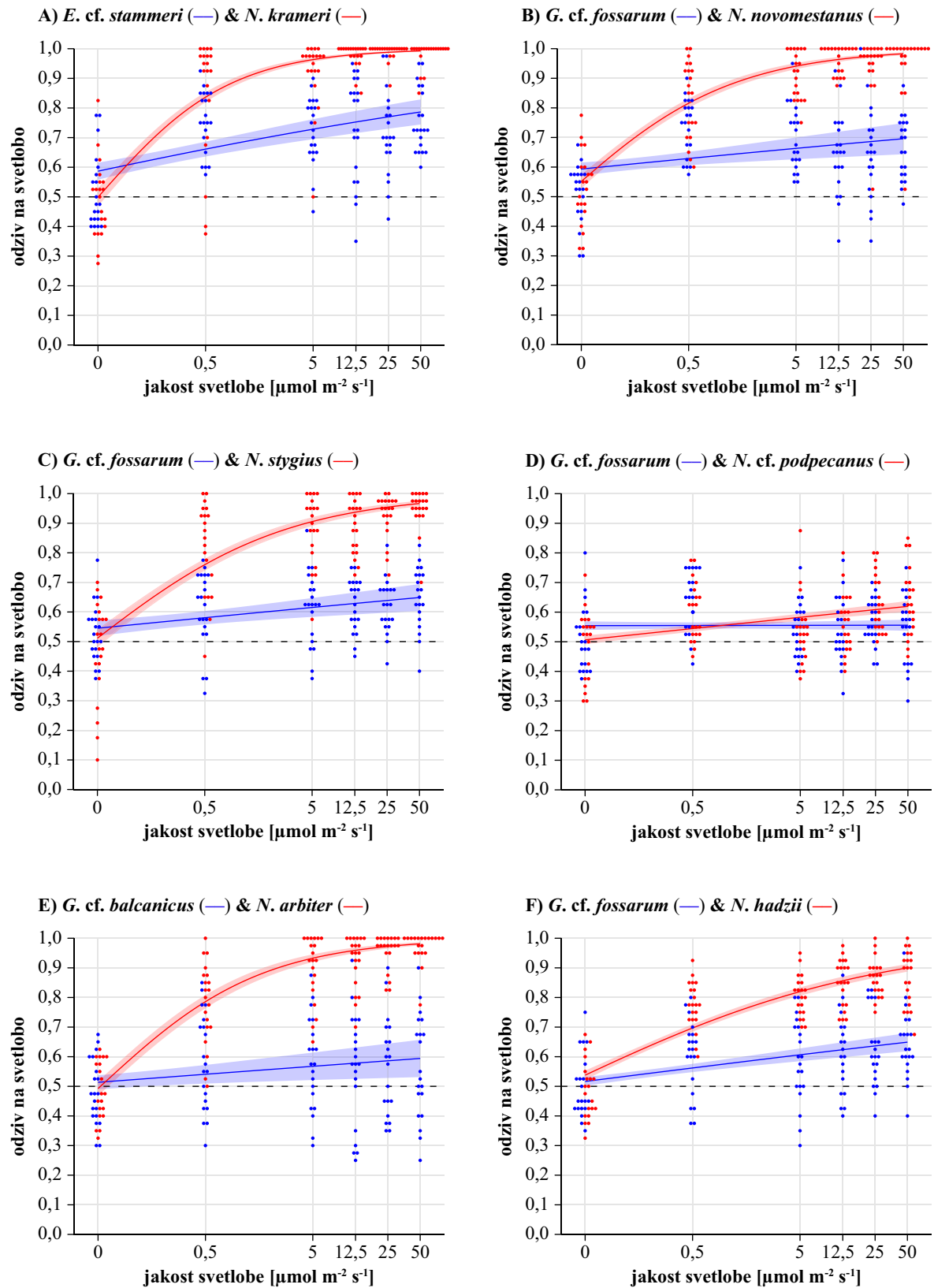
lokacija	sobivajoči vrsti	izhodišče	naklon	razlika naklonov
Boljunčica	<i>E. cf. stammeri</i>	0,350 / 0,014 *	0,318 / 0,004 **	-1,318 / < 0,001 ***
	<i>N. krameri</i>	-0,004 / 0,999	1,636 / < 0,001 ***	
Gabrovški studenec	<i>G. cf. fossarum</i>	0,377 / < 0,001 ***	0,150 / 0,348	-1,132 / < 0,001 ***
	<i>N. novomestanus</i>	0,202 / 0,133	1,282 / < 0,001 ***	
Gračenica	<i>G. cf. fossarum</i>	0,181 / 0,312	0,144 / 0,232	-0,962 / < 0,001 ***
	<i>N. stygius</i>	0,046 / 0,987	1,106 / < 0,001 ***	
Iška	<i>G. cf. fossarum</i>	0,218 / < 0,001 ***	0,002 / 0,999	-0,152 / 0,009 **
	<i>N. cf. podpecanus</i>	0,025 / 0,981	0,154 / < 0,001 ***	
Janjuševo vrelo	<i>G. cf. balcanicus</i>	0,055 / 0,967	0,109 / 0,548	-1,220 / < 0,001 ***
	<i>N. arbiter</i>	-0,030 / 0,997	1,329 / < 0,001 ***	
Močilnik	<i>G. cf. fossarum</i>	0,066 / 0,690	0,183 / 0,002 **	-0,499 / < 0,001 ***
	<i>N. hadzii</i>	0,151 / 0,059 ⁺	0,682 / < 0,001 ***	
Oševček	<i>G. cf. fossarum</i>	0,163 / 0,171	-0,029 / 0,933	-0,372 / < 0,001 ***
	<i>N. slovenicus</i>	-0,047 / 0,955	0,344 / < 0,001 ***	
Podpeški izvir	<i>G. cf. fossarum</i>	0,012 / 0,999	0,238 / 0,070 ⁺	-1,090 / < 0,001 ***
	<i>N. rejici</i>	-0,053 / 0,986	1,327 / < 0,001 ***	
Škofijski potok	<i>G. cf. balcanicus</i>	0,147 / 0,500	0,229 / 0,017 *	-0,528 / < 0,001 ***
	<i>N. spinulifemur</i>	-0,102 / 0,792	0,757 / < 0,001 ***	
Želinjski potok	<i>G. cf. fossarum</i>	-0,074 / 0,859	-0,052 / 0,774	-0,592 / < 0,001 ***
	<i>N. sphagnicolus</i>	0,108 / 0,646	0,540 / < 0,001 ***	

⁺ 0,05 < p < 0,1

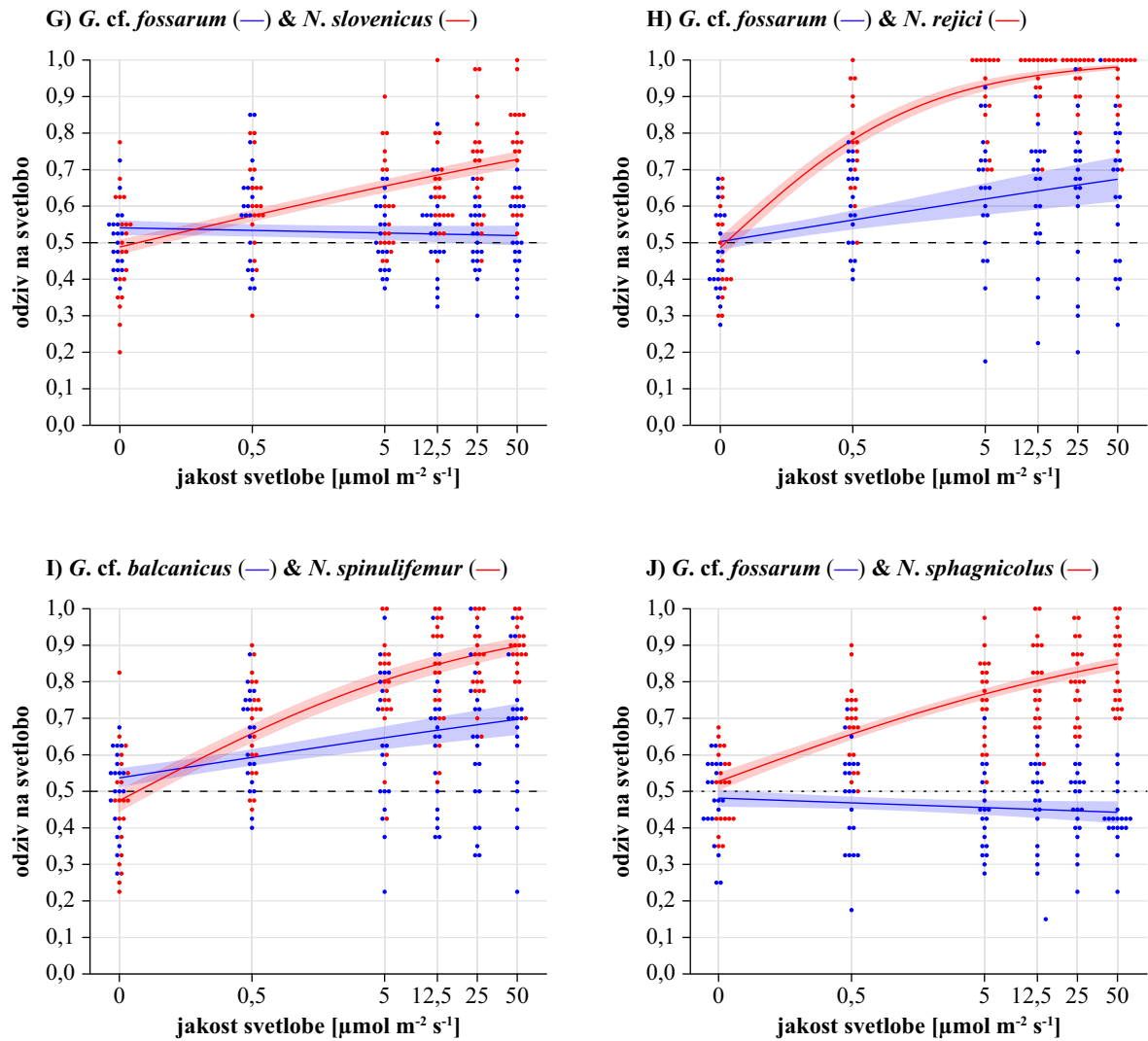
* 0,01 < p < 0,05

** 0,001 < p < 0,01

*** p < 0,001



Slika 6 se nadaljuje na naslednji strani.

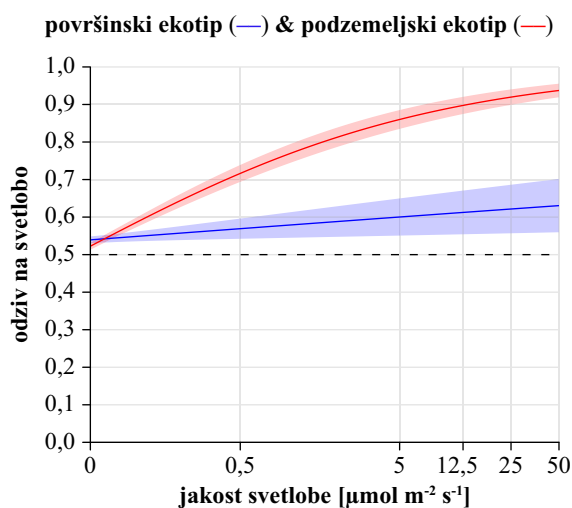


Slika 6: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med sobivajočimi vrstami površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih postranic (*Niphargus*) (A–J). Napovedi za vsaki sobivajoči postranici so izračunane z GLMM modelom M3. Vrednost 0,5 predstavlja fotoneutralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.

Preglednica 4: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med površinskim in podzemeljskim ekotipom postranic. Analiza je opravljena z GLMM modelom M4. Izhodišče opisuje vedenjski odziv v temi, naklon pa tip in moč odziva na svetlobo. Razlika naklonov opisuje razliko v vedenjskem odzivu med ekotipoma, pri čemer pozitivne vrednosti razlik označujejo manj fotofoben, negativne pa bolj fotofoben odziv podzemeljskega ekotipa glede na površinskega. Ocene parametrov s pripadajočimi p-vrednostmi so izražene v logit skali.

ekotip	izhodišče	naklon	razlika naklonov
površinski	0,150 / < 0,001 ***	0,128 / 0,603	
podzemeljski	0,037 / 0,786	0,889 / < 0,001 ***	-0,761 / < 0,001 ***

*** p < 0,001



Slika 7: Primerjava vedenjskega odziva na svetlobo med površinskim in podzemeljskim ekotipom postranic. Napoved je izračunana z GLMM modelom M4. Vrednost 0,5 predstavlja fotoneutralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.

Preglednica 5: Vrednosti PR_{75} površinskih (*Gammarus*, *Echinogammarus*) in podzemeljskih postranic (*Niphargus*). Vrednost PR_{75} opisuje jakost svetlobe, pri kateri je verjetnost, da osebek izkaže fotofoben odziv, enaka 0,75. Za vsako vrednost PR_{75} je podan 95 % interval zaupanja (IZ).

lokacija	površinska postranica	PR_{75} (IZ) [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	podzemeljska postranica	PR_{75} (IZ) [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]
Boljunčica	<i>E. cf. stammeri</i>	11,26 (10,87–11,64)	<i>N. krameri</i>	0,22 (0,13–0,31)
Gabrovški studenec	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. novomestanus</i>	0,24 (0,14–0,33)
Janjuševo vrelo	<i>G. cf. balcanicus</i>	> 50	<i>N. arbiter</i>	0,34 (0,24–0,44)
Podpeški izvir	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. rejici</i>	0,35 (0,25–0,45)
Gračnica	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. stygius</i>	0,43 (0,33–0,53)
Močilnik	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. hadzii</i>	1,21 (1,11–1,32)
Škofijski potok	<i>G. cf. balcanicus</i>	> 50	<i>N. spinulifemur</i>	1,91 (1,78–2,04)
Želinjski potok	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. sphagnicolus</i>	3,42 (3,29–3,54)
Oševak	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. slovenicus</i>	> 50
Iška	<i>G. cf. fossarum</i>	> 50	<i>N. cf. podpecanus</i>	> 50

Preglednica 6: Vrednosti PR_{75} površinskega in podzemeljskega ekotipa postranic. Vrednost PR_{75} opisuje jakost svetlobe, pri kateri je verjetnost, da osebek izkaže fotofoben odziv, enaka 0,75. Za vsako vrednost PR_{75} je podan 95 % interval zaupanja (IZ).

ekotip	PR_{75} [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	IZ [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]
površinski	> 50	/
podzemeljski	0,77	0,66–0,88

5 RAZPRAVA

5.1 VEDENJSKI ODZIV NA SVETLOBO IN DISTRIBUCIJA POSTRANIC

Podzemeljske postranice so, skladno z našo hipotezo, izkazale izrazito fotofobno vedenje. Nasprotno je bil vedenjski odziv površinskih vrst fotonevtralen ali šibko fotofoben (Preglednica 3; Slika 6), kar le delno podpira izhodiščno hipotezo, kjer smo predvidevali fotofilno do fotonevtralno vedenje površinskih vrst. Fotofilnega vedenjskega odziva nismo izmerili pri nobeni površinski vrsti postranice, poleg tega so se tri od desetih populacij izkazale za fotofobne. Slednji odziv na svetlobo bi bil lahko prilagoditev na sobivanje z ribami, za katere so površinske postranice pomemben vir hrane. Znano je, da ob prisotnosti plenilcev postranice hitro razvijejo obrambno vedenje, kot je umik v substrat (Åbjörnsson in sod., 2004), pri čemer bi fotofobno vedenje lahko igralo pomembno vlogo pri iskanju ustreznih skrivališč. Četudi so bili nekateri predstavniki površinskih postranic fotofobni, je bila sobivajoča podzemeljska vrsta vselej izrazito bolj fotofobna (Preglednica 3; Slika 6). Različen odziv površinskih in podzemeljskih vrst bi lahko pomembno vplival na njihovo distribucijo tako na lokalni kot regionalni geografski ravni.

Na lokalni ravni bi bil lahko različen odziv površinskih in podzemeljskih vrst na svetlobo vzrok za ločeno prostorsko razporejanje obeh ekotipov vzdolž svetlobnega gradienta. To bi pomembno prispevalo k ostri razmejitvi površinske in podzemeljske favne, saj bi slednjim izrazit fotofoben odziv omogočal jasno prepoznavo primarnega habitata. Z zasedanjem temnih mikrohabitats, kot so nanosi listja ali špranje v sedimentu vodotoka, bi podzemeljske vrste lahko poselile tudi suboptimalne površinske habitate. Poselitev različnih mikrohabitats lahko pomembno omejuje škodljive medvrstne interakcije in dolgoročno omogoča kompeticijsko šibkejšim podzemeljskim vrstam sobivanje z uspešnejšo površinsko favno. Prostorska ločenost obeh favn v površinskih habitatih je sicer že dokumentirana, a so jo do sedaj poskušali razložiti kot posledico različne strukture substrata in sprememb vodostaja (Plenet, 1992; Marmonier in sod., 2010).

Na regionalni ravni bi fotofobno vedenje lahko razložilo fenomen majhnih arealov podzemeljskih vrst (Lefébure in sod., 2007; Trontelj in sod., 2009). K slabi disperzijski sposobnosti naj bi poglavitno prispevala močna fragmentiranost podzemeljskega prostora (Gibert in Deharveng, 2002). Pri tem bi disperzijo lahko močno otežil tudi fotofoben odziv na svetlobo, ki bi glavne disperzijske poti omejil na neosvetljene plitve podzemeljske habitate, kot sta hiporeik in hipotelminoreik (Culver in Pipan, 2008). Vodni tok je tu

močno upočasnjen, zaradi česar osebki niso podvrženi plavljenju. Disperzija tako postane neusmerjena in bolj individualizirana. Četudi populacijo lahko zasnuje že ena sama ovigera samica (Wellborn in Capps, 2012), učinek populacijskega ozkega grla dolgoročno zmanjša verjetnost uspešne kolonizacije na oddaljenih zaplatah ustreznih habitatov (Pilgrim in sod., 2013).

Vedenje živali pogosto ostaja prezrt dejavnik pri preučevanju distribucije vrst, vendar naša študija nazorno kaže, da vedenjski odziv lahko pomembno pripomore k celovitejšemu razumevanju oblikovanja vzorcev vrstne pestrosti tako na lokalni kot tudi regionalni geografski ravni. Zato vedenje živali predstavlja obetavno izhodišče za nadaljnje mikro- in makroekološke študije.

5.2 EVOLUCIJA FOTOFOBNEGA VEDENJA PRI PODZEMELJSKIH VRSTAH

Adaptacija na podzemeljsko življenje pogosto vodi v redukcijo oči in pigmentov (Culver in Pipan, 2009). Izguba funkcionalnosti struktur naj bi bila rezultat nevtralnih mutacij, ki se kopičijo v odsotnosti svetlobe kot selekcijskega dejavnika (Langecker, 2000). Novejše študije kažejo, da redukcija oči poteka hitreje, kot bi lahko to pojasnilo zgolj kopičenje nevtralnih mutacij. Relativno hitro regresijo pojasnjujejo z antagonističnim pleiotrofnim učinkom razvoja ekstraokularnih čutil, razvoj katerih je v podzemlju pod močno pozitivno selekcijo (Protas in sod., 2007; Jeffery, 2009; Klaus in sod., 2013). V luči regresivne evolucije pojasnjujejo tudi fotofobno vedenje podzemeljskih vrst. Fotofobnost naj bi bila le ostanek lastnosti predniške vrste, ki se tekom evolucije v popolni temi reducira skupaj s fotoreceptorji (Vawter in sod., 1987).

Slepe postranice imajo popolnoma reducirane oči že vsaj 30 milijonov let (Jazdzewski in Kupryjanowicz, 2010). V skladu z zgornjima teorijama bi tako pri slepih postranicah morali pričakovati popolno odsotnost fotoreceptorjev in posledično tudi neodzivnost na svetlobo. Nasprotno naši rezultati potrjujejo ohranjeno fotofobno vedenje, kar dokazuje tako prisotnost še neidentificiranih ekstraokularnih fotoreceptorjev kot tudi prisotnost pozitivne selekcije za fotoreceptorje pri podzemeljskih vrstah.

Slednje meče novo luč na zapletenost adaptivne evolucije, saj kaže možnost sočasnega delovanje regresivne evolucije na okularne fotoreceptorje, a tudi pozitivne selekcije za ekstraokularne fotoreceptorje. Slepe postranice so prvi primer, pri katerem lahko posredno dokažemo prisotnost pozitivne selekcije za fotoreceptorje pri podzemeljskih živalih.

6 SKLEPI

- 1) Metodologija za merjenje vedenjskega odziva na svetlobo je ustrezno zasnovana za kvantificiranje poljubnega odziva na svetlobo.
- 2) Vrsten red in tip aklimacije, bodisi pod dnevno-nočnim (12 h-12 h) ali temnim (24 h) svetlobnim režimom, ne vplivata na vedenjski odziv površinskih (rodova *Gammarus* in *Echinogammarus*) in podzemeljskih slepih postranic (rod *Niphargus*) na svetlobo.
- 3) Pri površinskih postranicah je odziv na svetlobo fotonevtralen ali šibko fotofoben, medtem ko je odziv slepih postranic izrazito fotofoben.
- 4) Jakost svetlobe, pri kateri je verjetnost, da osebek izkaže fotofoben odziv, enaka 0,75 (PR₇₅), je pri površinskih postranicah večinoma visoka in presega 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nasprotno so vrednosti PR₇₅ pri slepih postranicah večinoma bistveno nižje in se gibljejo med 0,22 in 3,42 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.
- 5) Slepa postranica se je na svetlobo vselej odzvala izrazito bolj fotofobno kot površinska vrsta postranice, s katero sobiva.
- 6) Različen odziv na svetlobo verjetno vodi v medsebojno ločeno prostorsko razporejanje površinskega in podzemeljskega ekotipa postranic vzdolž svetlobnega gradienta, kar bi lahko pomembno prispevalo k ostri razmejitvi obeh favn.
- 7) Na svetlobo ranljive slepe postranice bi lahko preko temnih mikrohabitata poselile zanje suboptimalno površje, kjer bi zaradi ločene mikrodistribucije lahko sobivale s kompeticijsko močnejšo površinsko favno.
- 8) Fotofobno vedenje verjetno močno oteži obsežnejšo disperzijo slepih postranic preko površja, saj jih omeji na temne mikrohabitata, kjer ni močnejših vodnih tokov. Slednje zmanjša disperzijsko sposobnost, kar bi lahko pojasnilo majhne areale slepih postranic.
- 9) Slepe postranice so prvi primer, pri katerem lahko posredno dokažemo prisotnost pozitivne selekcije za fotoreceptorje pri podzemeljskih živalih.

7 POVZETEK

Distribucija vrst je ena izmed osrednjih tem v raziskovanju biodiverzitet. Ena najizrazitejših razmejitev vzorcev vrstne pestrosti se zgodi na prehodu površinskega v podzemeljsko okolje. Ostro razmejitve favne so poskušali razložiti tako z abiotskimi dejavniki, kot je svetloba, ki pri nepigmentiranih podzemeljskih vrstah povzroči fiziološki stres in celo smrt, kot tudi z biotskimi dejavniki, kot je kompeticijsko izključevanje. Nepričakovano, a na stičišču obeh ekosistemov, kot so izviri, obe favni sobivata.

Domnevamo, da bi razmejitve bolje pojasnili z mehanizmom izbire habitata. Gre za nabor vedenjskih odzivov, ki osebkom omogočajo prepoznati optimalni habitat in preprečujejo disperzijo v suboptimalnega. Distribucijo v tem pogledu lahko razumemo kot odraz izbire habitata v prostoru. Predvidevamo, da na izbiro habitata pomembno vpliva svetloba, saj najostreje razmejuje površinsko in podzemeljsko okolje, kar bi osebkom lahko omogočalo jasno prepoznavo zanj ustreznega življenjskega prostora.

Namen magistrske naloge je bil ugotoviti, ali lahko razmejitve površinskih in podzemeljskih postranic razložimo z vedenjskim odzivom na svetlobo. Izmerili smo vedenjski odziv na šest jakosti svetlobe pri desetih vrstah na podzemlje specializiranih slepih postranic (*Niphargus*), ki živijo v izviri, ter odziv primerjali s sobivajočimi površinskimi postranicami (*Gammarus*, *Echinogammarus*). Podatke smo analizirali s posplošenim linearnim mešanim modelom. Odziv površinskih postranic na svetlobo je bil fotonevtralen ali pa šibko fotofoben, odziv slepih postranic pa izrazito fotofoben.

Različen odziv površinskih in podzemeljskih postranic na svetlobo bi bil lahko vzrok za ločeno prostorsko razporejanje obeh ekotipov vzdolž svetlobnega gradienta, kar bi pomembno prispevalo k ostri razmejitvi obeh favn. Z zasedanjem temnih mikrohabitata bi slepe postranice lahko poselile tudi zanje suboptimalne površinske habitate. Tu sobivajo s kompeticijsko uspešnejšo površinsko favno, saj slednja zaseda osvetljene mikrohabitata. Nadalje izrazita fotofobnost slepih postranic verjetno močno otežuje obsežnejšo disperzijo preko površja, kar bi lahko pojasnilo tudi njihove majhne areale.

Distribucijo vrst največkrat razlagajo zgolj z omejenim naborom dejavnikov, pri čemer vedenje živali pogosto ostaja prezrto. Iz rezultatov naše raziskave je razvidno, da z vedenjskim odzivom na določen okoljski dejavnik lahko celoviteje razložimo vzorce vrstne pestrosti tako na lokalni kot regionalni geografski ravni. Vedenje tako predstavlja obetavno izhodišče za nadaljnje mikro- in makroekološke študije.

8 LITERATURA

- Åbjörnsson K., Hansson L.-A., Brönmark C. 2004. Responses of prey from habitats with different predator regimes: local adaptation and heritability. *Ecology*, 85, 7: 1859–1866
- Anderson R.P. 2013. A framework for using niche models to estimate impacts of climate change on species distributions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1297, 1: 8–28
- Araújo M.B., Guisan A. 2006. Five (or so) challenges for species distribution modelling. *Journal of Biogeography*, 33, 10: 1677–1688
- Bates D., Maechler M., Bolker B., Walker S. 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1-7.
<http://CRAN.R-project.org/package=lme4> (12. avgust 2014)
- Binckley C.A., Resetarits W.J.Jr. 2005. Habitat selection determines abundance, richness and species composition of beetles in aquatic communities. *Biology Letters*, 1, 3: 370–374
- Blonder B., Lamanna C., Violle C., Enquist B.J. 2014. The n-dimensional hypervolume. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 5: 595–609
- Borowsky B. 2011. Responses to Light In Two Eyeless Cave Dwelling Amphipods (*Niphargus ictus* and *Niphargus frassianus*). *Journal of Crustacean Biology*, 31, 4: 613–616
- Brockerhoff S.E., Hurley J.B., Janssen-Bienhold U., Neuhauss S.C.F., Driever W., Dowling J.E. 1995. A behavioral screen for isolating zebrafish mutants with visual system defects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 23: 10545–10549
- Cabral J.S. Kreft H. 2012. Linking ecological niche, community ecology and biogeography: insights from a mechanistic niche model. *Journal of Biogeography*, 39, 12: 2212–2224
- Cadenasso M.L., Pickett S.T.A., Weathers K.C., Jones C.G. 2003. A framework for a theory of ecological boundaries. *BioScience*, 53, 8: 750–758
- Carroll T.M., Thorp J.H. 2014. Ecotonal shifts in diversity and functional traits in zoobenthic communities of karst springs. *Hydrobiologia*, 738, 1: 1–20
- Chase J.M., Leibold M.A. 2003. *Ecological niches: linking classical and contemporary approaches*. 1. izd. Chicago, London, The University of Chicago Press: 216 str.

- Colwell R.K., Rangel T.F. 2009. Hutchinson's duality: The once and future niche. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 2: 19651–19658
- Culver D.C., Pipan T. 2008. Superficial subterranean habitats – gateway to the subterranean realm. *Cave and Karst Science*, 35, 1-2: 5–12
- Culver D.C., Pipan T. 2009. *The biology of caves and other subterranean habitats*. 1. izd. Oxford, Oxford University Press: 256 str.
- Doligez B., Boulinier T. 2008. Habitat Selection and Habitat Suitability Preferences. V: *Encyclopedia of Ecology*. Jørgensen S.E., Fath B.D. (ur.). Oxford, Academic Press: 1810–1830
- Dormann C.F., Schymanski S.J., Cabral J., Chuine I., Graham C., Hartig F., Kearney M., Morin X., Römermann C., Schröder B., Singer A. 2012. Correlation and process in species distribution models: bridging a dichotomy. *Journal of Biogeography*, 39, 12: 2119–2131
- Endler J.A. 1993. The color of light in forests and its implications. *Ecological Monographs*, 63, 1: 1–27
- Fišer C. 2012. *Niphargus*: a model system for evolution and ecology. V: *Encyclopedia of caves*. Culver D.C., White W.B. (ur.). 2. izd. Amsterdam, Elsevier/Academic Press: 555–564
- Fišer C., Keber R., Kereži V., Moškrič A., Palandančič A., Petkovska V., Potočnik H., Sket B. 2007. Coexistence of species of two amphipod genera: *Niphargus timavi* (Niphargidae) and *Gammarus fossarum* (Gammaridae). *Journal of Natural History*, 41, 41-44: 2641–2651
- Fišer C., Kovačec Ž., Pustovrh M., Trontelj P. 2010. The role of predation in the diet of *Niphargus* (Amphipoda: Niphargidae). *Speleobiology notes*, 2: 4–6
- Fišer C., Pipan T., Culver D.C. 2014. The Vertical Extent of Groundwater Metazoans: An Ecological and Evolutionary Perspective. *BioScience*, 64, 11: 971–979
- Fišer C., Sket B., Stoch F. 2006. Distribution of four narrowly endemic *Niphargus* species (Crustacea: Amphipoda) in the western Dinaric region with description of a new species. *Zoologischer Anzeiger – A Journal of Comparative Zoology*, 245, 2: 77–94
- Fišer C., Sket B., Trontelj P. 2008. A phylogenetic perspective on 160 years of troubled taxonomy of *Niphargus* (Crustacea: Amphipoda). *Zoologica Scripta*, 37, 6: 665–680

- Friedrich M., Chen R., Daines B., Bao R., Caravas J., Rai P.K., Zagnajster M., Peck S.B. 2011. Phototransduction and clock gene expression in the troglobiont beetle *Ptomaphagus hirtus* of Mammoth cave. *The Journal of Experimental Biology*, 214: 3532–3541
- Garland T.Jr. 2001. Phylogenetic comparison and artificial selection. Two approaches in evolutionary physiology. V: *Hypoxia: From Genes to the Bedside*. Roach R.C., Wagner P.D., Hackett P.H. (ur.). New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers: 107–132
- Gibert J., Deharveng L. 2002. Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity. *BioScience* 52, 6: 473–481
- Ginet R. 1960. Écologie, éthologie et biologie de *Niphargus* (Amphipodes Gammaridés hypogés). *Annales de Spéléologie*, 15: 127–376
- Guisan A., Thuiller W. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8, 9: 993–1009
- Guisan A., Zimmermann N.E. 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135, 2-3: 147–186
- Hamilton I.M. 2010. Habitat Selection. V: *Encyclopedia of Animal Behavior*. Breed M.D., Moore J. (ur.). Oxford, Academic Press: 38–43
- Hervant F., Mathieu J., Barré H., Simon K., Pinon C. 1997. Comparative Study on the Behavioral, Ventilatory, and Respiratory Responses of Hypogean and Epigean Crustaceans to Long-term Starvation and Subsequent Feeding. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology*, 118, 4: 1277–1283
- Holt R.D. 2009. Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: ecological and evolutionary perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 2: 19659–19665
- Holt R.D., Keitt T.H. 2005. Species' borders: a unifying theme in ecology. *Oikos*, 108, 1: 3–6
- Hothorn T., Bretz F., Westfall P. 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, 50, 3: 346–363
- Hüppop K. 2000. How do cave animals cope with the food scarcity in caves? V: *Subterranean ecosystems*. Wilkens H., Culver D.C., Humphreys W.F. (ur.). 1. izd. Amsterdam, Elsevier: 159–188

- Hutchinson G.E. 1957. Concluding Remarks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 22: 415–427
- Issartel J., Hervant F., Voituron Y., Renault D., Vernon P. 2005. Behavioural, ventilatory and respiratory responses of epigeal and hypogean crustaceans to different temperatures. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 141, 1: 1–7
- Jackson C.H. 2011. Multi-State Models for Panel Data: The msm Package for R. Journal of Statistical Software, 38, 8: 1–28
- Janzer W., Ludwig W. 1952. Versuche zur evolutorischen Entstehung der Höhlentiermerkmale. Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, 84, 5: 462–479
- Jazdzewski K., Kupryjanowicz J. 2010. One more fossil niphargid (Malacostraca: Amphipoda) from Baltic amber. Journal of Crustacean Biology, 30, 3: 413–416
- Jeffery W.R. 2009. Regressive Evolution in *Astyanax* Cavefish. Annual Review of Genetics, 43, 1: 25–47
- Jetz W., McPherson J.M., Guralnick R.P. 2012. Integrating biodiversity distribution knowledge: toward a global map of life. Trends in Ecology & Evolution, 27, 3: 151–159
- Jones J. 2001. Habitat Selection Studies in Avian Ecology: A Critical Review. The Auk, 118, 2: 557–562
- Kearney M., Porter W. 2009. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. Ecology letters, 12, 4: 334–350
- Klaus S., Mendoza J.C.E., Liew J.H., Plath M., Meier R., Yeo D.C.J. 2013. Rapid evolution of troglomorphic characters suggests selection rather than neutral mutation as a driver of eye reduction in cave crabs. Biology letters, 9, 2: 20121098, DOI: 10.1098/rsbl.2012.1098: 5 str.
- Kubisch A., Holt R.D., Poethke H.-J., Fronhofer E.A. 2014. Where am I and why? Synthesizing range biology and the eco-evolutionary dynamics of dispersal. Oikos, 123, 1: 5–22
- Kureck A. 1964 Light sensitivity in the Amphipode, *Niphargus aquilex schellenbergi* Karaman. Experientia 20, 9, 523–524

- Kureck A. 1967. Über die tagesperiodische Ausdrift von *Niphargus aquilex schellenbergi* Karaman aus Quellen. Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere, 58, 3: 247–262
- Langecker T.G. 1992. Light sensitivity of cave vertebrates. Behavioral and morphological aspect. V: The Natural History of Biospeleology. Camacho A.I. (ur.). Madrid, Consejo superior de investigaciones científicas: 295–326
- Langecker T.G. 2000. The effects of continuous darkness on cave ecology and cavernicolous evolution. V: Ecosystems of the World 30: Subterranean Ecosystems. Wilkens H., Culver D.C., Humphreys W.F. (ur.). Amsterdam, Elsevier: 135–157
- Lefébure T., Douady C.J., Malard F., Gibert J. 2007. Testing dispersal and cryptic diversity in a widely distributed groundwater amphipod (*Niphargus rhenorhodanensis*). Molecular Phylogenetics and Evolution, 42, 3: 676–686
- Luštrik R., Turjak M., Kralj-Fišer S., Fišer C. 2011. Coexistence of surface and cave amphipods in an ecotone environment. Contributions to Zoology, 80, 2: 133–141
- Mamos T., Wattier R., Majda A., Sket B., Grabowski M. 2014. Morphological vs. molecular delineation of taxa across montane regions in Europe: the case study of *Gammarus balcanicus* Schäferna, 1922 (Crustacea: Amphipoda). Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 52, 3: 237–248
- Marmonier P., Luczyszyn H., des Châtelliers M.C., Landon N., Claret C., Dole-Olivier M.-J. 2010. Hyporheic flowpaths and interstitial invertebrates associated with stable and eroded river sections: interactions between micro- and meso-scales. Fundamental and Applied Limnology, 176, 4: 303–317
- Marshall J., Kent J., Cronin T. 1999. Visual adaptations in crustaceans: Spectral sensitivity in diverse habitats. V: Adaptive Mechanisms in the Ecology of Vision. Archer S.N., Djamgoz M.B.A., Loew E.R., Partridge J.C., Vallerga S., (ur.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 285–327
- Meineri E., Deville A.-S., Grémillet D., Gauthier-Clerc M., Béchet A. Combining correlative and mechanistic habitat suitability models to improve ecological compensation. Biological Reviews, v tisku
- Meyer-Rochow V.B. 2001. The Crustacean Eye: Dark/ Light Adaptation, Polarization Sensitivity, Flicker Fusion Frequency, and Photoreceptor Damage. Zoological Science, 18, 9: 1175–1197

- Morris D.W. 2003. Toward an ecological synthesis: a case for habitat selection. *Oecologia*, 136, 1: 1–13
- Müller K. 1966. Die Tagesperiodik von Fließwasserorganismen. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 56, 1: 93–142
- Müller K., Kureck A., Müller-Haeckel A. 1963. Zur Tagesperiodik von *Niphargus aquilex schellenbergi* Karaman (Gammaridae, Amphipoda). *Die Naturwissenschaften*, 50, 17: 579–580
- Orger M.B., Baier H. 2005. Channeling of red and green cone inputs to the zebrafish optomotor response. *Visual Neuroscience*, 22, 3: 275–281
- Pagel J., Schurr F.M. 2012. Forecasting species ranges by statistical estimation of ecological niches and spatial population dynamics. *Global Ecology and Biogeography*, 21, 2: 293–304
- Peterson A.T., Soberón J., Pearson R.G., Anderson R.P., Martínez-Meyer E., Nakamura M., Araújo M. 2011. *Ecological Niches and Geographic Distributions*. 1. izd. Princeton, Princeton University Press: 328 str.
- Pilgrim E.M., Blum M.J., Reusser D.A., Lee H.II, Darling J.A. 2013. Geographic range and structure of cryptic genetic diversity among Pacific North American populations of the non-native amphipod *Grandidierella japonica*. *Biological Invasions*, 15, 11: 2415–2428
- Pipán T., Culver D.C. 2012. Convergence and divergence in the subterranean realm: a reassessment. *Biological Journal of the Linnean Society*, 107, 1: 1–14
- Plenet S., Gibert J., Vervier P. 1992. A floodplain spring: An ecotone between surface water and groundwater. *Regulated rivers: Research & Management*, 7, 1: 93–102
- Protas M., Conrad M., Gross J.B., Tabin C., Borowsky R. 2007. Regressive Evolution in the Mexican Cave Tetra, *Astyanax mexicanus*. *Current Biology*, 17, 5: 452–454.
- Pulliam H.R. 2000. On the relationship between niche and distribution. *Ecology Letters*, 3, 4: 349–361
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
<http://www.R-project.org/> (12. avgust 2014)

- Ravigné V., Dieckmann U., Olivieri I. 2009. Live Where You Thrive: Joint Evolution of Habitat Choice and Local Adaptation Facilitates Specialization and Promotes Diversity. *The American Naturalist*, 174, 4: 141–169
- Resetarits W.J.Jr. 2005. Habitat selection behaviour links local and regional scales in aquatic systems. *Ecology Letters*, 8, 5: 480–486
- Ries L., Fletcher R.J., Battin J., Sisk T.D. 2004. Ecological Responses to Habitat Edges: Mechanisms, Models, and Variability Explained. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35: 491–522
- Riesch R., Plath M., Schlupp I. 2011. Speciation in caves: experimental evidence that permanent darkness promotes reproductive isolation. *Biology Letters* 7, 909–912.
- Risser P.G. 1995. The Status of the Science Examining Ecotones. *BioScience*, 45, 5: 318–325
- Roever C.I., Beyer H.I., Chase M.J., van Aarde R.J. 2013. The pitfalls of ignoring behaviour when quantifying habitat selection. *Diversity and Distributions*, 20, 3: 322–333
- Sexton J.P., McIntyre P.J., Angert A.L., Rice K.J. 2009. Evolution and Ecology of Species Range Limits. *Annual Reviews of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 415–436
- Simčič T., Brancelj A. 2007. The effect of light on oxygen consumption in two amphipod crustaceans – the hypogean *Niphargus stygius* and the epigean *Gammarus fossarum*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 40, 2: 141–150
- Sket B. 1977. Gegenseitige Beeinflussung der Wasserpollution und des Höhlenmilieus. *Proceedings of the 6th International Congress of Speleology, Olomouc 1973*, 5: 253–262
- Sket B. 1985. Why all cave animals do not look alike – a discussion on adaptive value of reduction processes. *The Bulletin of the National Speleological Society*, 47, 2: 78–85
- Sket B. 1999. High biodiversity in hypogean waters and its endangerment – the situation in Slovenia, the Dinaric Karst, and Europe. *Crustaceana*, 72, 8: 767–779
- Sket B. 2008. Can we agree on an ecological classification of subterranean animals? *Journal of Natural History*, 42, 21-22: 1549–1563
- Soberón J. 2007. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters*, 10, 12: 1115–1123

- Trontelj P., Douady C.J., Fišer C., Gibert J., Gorički, Š., Lefébure T., Sket B., Zakšek V. 2009. A molecular test for cryptic diversity in ground water: how large are the ranges of macro-stygobionts? *Freshwater Biology*, 54, 4: 727–744
- Väinölä R., Witt J.D.S., Grabowski M., Bradbury J.H., Jazdzewski K., Sket B. 2008. Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 1: 241–255
- Vawter A.T., Fong D.W., Culver D.C. 1987. Negative phototaxis in surface and cave populations of the amphipod *Gammarus minus*. *Stygologia*, 3, 1: 83–88
- Weiss M., Macher J.N., Seefeldt M.A., Leese F. 2014. Molecular evidence for further overlooked species within the *Gammarus fossarum* complex (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia*, 721, 1: 165–184.
- Wellborn G.A., Capps E. 2012. Establishment of a new population by a single gravid colonist: implications for *Hyaella* biogeography and speciation. *Evolutionary Ecology*, 27, 1: 101–115
- White W.B. 2012. Springs. V: *Encyclopedia of caves*. Culver D.C., White W.B. (ur.). 2. izd. Amsterdam, Elsevier/Academic Press: 797–805
- Wickham H. 2009. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. 1. izd. New York, Springer: 213 str.
- Wiens J.J. 2011. The niche, biogeography and species interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366, 1576: 2336–2350
- Wisz M.S., Pottier J., Kissling W.D., Pellissier L., Lenoir J., Damgaard C.F., Dormann C.F., Forchhammer M.C., Grytnes J.-A., Guisan A., Heikkinen R.K., Høye T.T., Kühn I., Luoto M., Maiorano L., Nilsson M.-C., Normand S., Öckinger E., Schmidt N.M., Termansen M., Timmermann A., Wardle D.A., Aastrup P., Svenning J.-C. 2013. The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. *Biological Reviews*, 88, 1: 15–30

ZAHVALA

Cenetu Fišerju se iskreno zahvaljujem za odlično mentorstvo
in za vso pomoč pri izdelavi magistrske naloge.
Hvala za vse podeljene nasvete, izkušnje in znanje.

Žigu Fišerju se zahvaljujem za vso pomoč pri
terenskem, laboratorijskem in analitičnem delu.
Hvala za velikodušnost in prijateljske pogovore.

Simoni Prevorčnik se zahvaljujem za pomoč
pri terenskem delu in za korektno
recenzijo magistrske naloge.

Teu Deliću in Maji Zagmajster
se zahvaljujem za neutrudno nabiranje živali.

Celotni ekipi Katedre za zoologijo se zahvaljujem
za prijetno in ustvarjalno delovno vzdušje.

Alenki Gaberščik se zahvaljujem za razreševanje
vseh birokratskih ovir tekom študija in za
velikodušno posojilo svetlomera.

Vsem sošolcem hvala, ker so me prepričali
v študij Ekologije in biodiverzitet.
Hvala za nešteto nepozabnih trenutkov.

Za vso spodbudo in podporo med študijem
se iskreno zahvaljujem družini.

PRILOGA A

Seznam lokacij vzorčenja sobivajočih površinskih in podzemeljskih postranic.

1 – Boljunčica

sekundarni izvir Boljunčice, 300 m JZ od vasi Ivaniči, Plomin, Hrvaška

koordinate WGS84: 45°8'28,04"N 14°9'47,71"E

datum: 31. 3. 2014; leg.: Teo Delić, Luka Novak, Simona Prevorčnik, Maja Zagmajster

površinska postranica: *Echinogammarus* cf. *stammeri* Karaman S., 1931; det.: Boris Sket

podzemeljska postranica: *Niphargus krameri* Schellenberg, 1935; det.: Cene Fišer

2 – Gabrovški studenec

Gabrovški studenec, 100 m V od vasi Gabrovčec, Ivančna Gorica, Slovenija

koordinate WGS84: 45°52'51,20"N 14°47'56,80"E

datum: 10. 4. 2014; leg.: Cene Fišer, Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus novomestanus* Karaman S., 1952; det.: Cene Fišer

3 – Gračenica

pritok potoka Gračenica, 890 m JZ od vasi Repnje, Vodice, Slovenija

koordinate WGS84: 46°10'04,50"N; 14°28'12,40"E

datum: 16. 1. 2014; leg.: Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus stygius* (Schjødte), 1847; det.: Cene Fišer

4 – Iška

pritok reke Iška, 940 m V od vasi Lepi Vrh, Velike Bloke, Slovenija

koordinate WGS84: 45°48'49,50"N; 14°31'56,20"E

datum: 8. 1. 2014; leg.: Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus* cf. *podpecanus*, Karaman S., 1952; det.: Cene Fišer

5 – Janjuševo vrelo

izvir Janjuševo vrelo, 200 m JZZ od vasi Pečina, Ličko Lešće, Hrvaška

koordinate WGS84: 44°47'44,38"N, 15°19'41,31"E

datum: 26. 6. 2014; leg.: Teo Delić, Maja Zagmajster

površinska postranica: *Gammarus* cf. *balcanicus* Schäferna, 1922; det.: Boris Sket

podzemeljska postranica: *Niphargus arbiter* Karaman G., 1985; det.: Cene Fišer

6 – Močilnik

Močilnik, izvir Ljubljance, 430 m JZ od vasi Mirke, Vrhnika, Slovenija

koordinate WGS84: 45°57'14,44"N 14°17'32,13"E

datum: 20. 5. 2014; leg.: Cene Fišer, Simona Prevorčnik

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus hadzii* Rejic, 1956; det.: Cene Fišer

7 – Oševak

pritok potoka Oševak, 700 m SSV od vasi Oševak, Kamnik, Slovenija

koordinate WGS84: 46°14'34,50"N 14°37'44,60"E

datum: 13. 3. 2014; leg.: Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus slovenicus* Karaman S., 1932; det.: Cene Fišer

8 – Podpeški izvir

izvir pritoka Podpeškega jezera, 630 m JJZ od vasi Jezero, Notranje Gorice, Slovenija

koordinate WGS84: 45°57'47,98"N 14°26'9,06"E

datum: 20. 5. 2014; leg.: Cene Fišer, Simona Prevorčnik

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus rejici* Sket, 1958; det.: Cene Fišer

9 – Škofijski potok

Škofijski potok, 550 m V od vasi Zgornje Škofije, Dekani, Slovenija

koordinate WGS84: 45°33'57,50"N; 13°48'24,20"E

datum: 12. 3. 2014; leg.: Žiga Fišer, Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *balcanicus* Schäferna, 1922; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus spinulifemur* Karaman S., 1954; det.: Cene Fišer

10 – Želinjski potok

izvir pritoka Želinjskega potoka, 1600 m SZ od vasi Mlaka pri Kranju, Kranj, Slovenija

koordinate WGS84: 46°17'12,20"N; 14°20'16,70"E

datum: 20. 6. 2014; leg.: Luka Novak

površinska postranica: *Gammarus* cf. *fossarum* Koch, 1836; det.: Cene Fišer

podzemeljska postranica: *Niphargus sphagnicolus* Rejic, 1956; det.: Cene Fišer

PRILOGA B

Fizikalni in kemijski parametri izmerjeni na lokacijah vzorčenja.

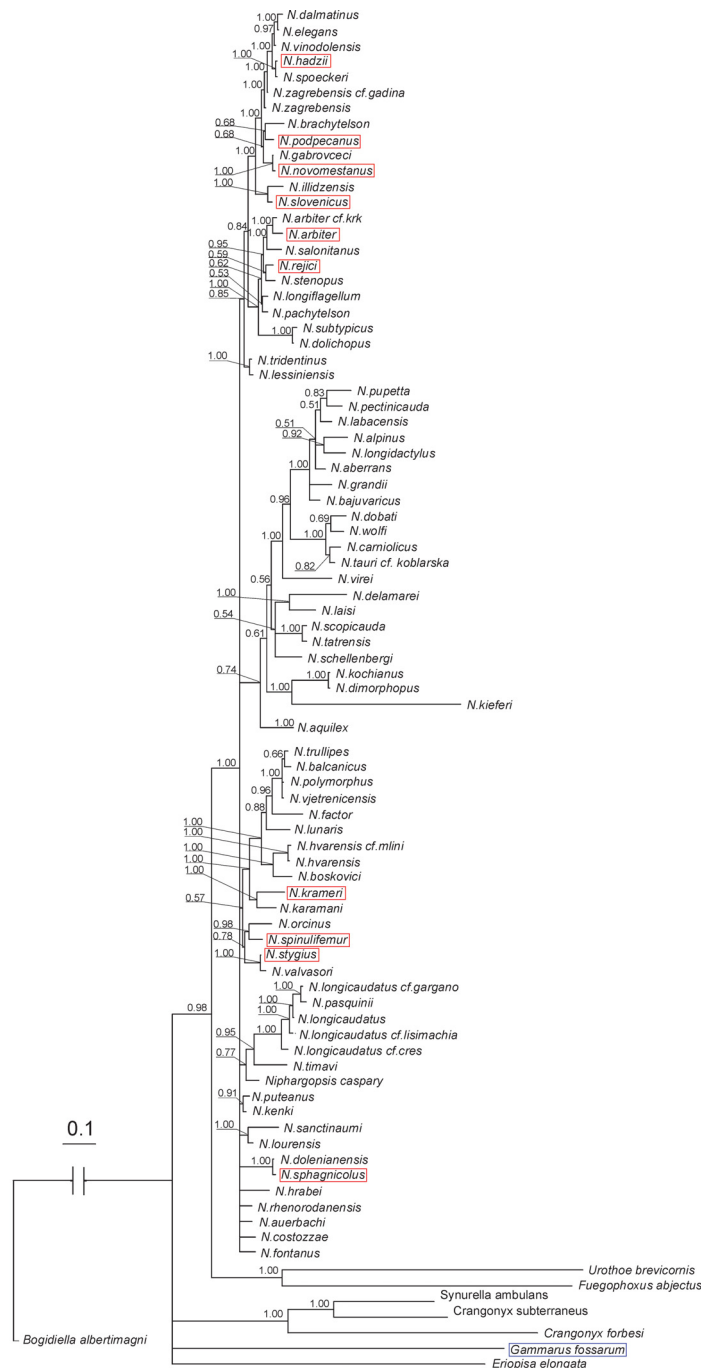
Na lokacijah vzorčenja sobivajočih vrst postranic smo z multimetrom (Waterproof Handheld PCD 650 Meter) izmerili osnovne fizikalne in kemijske parametre vode (Preglednica B1).

Preglednica B1: Fizikalni in kemijski parametri vode izmerjeni na lokacijah vzorčenja. Izmerili smo temperaturo (T), pH, nasičenost in koncentracijo kisika (O₂), elektroprevodnost (σ) in skupne raztopljene snovi (TDS).

lokacija	datum vzorčenja	ura meritve	T [°C]	pH	O ₂ [%]	O ₂ [mg L ⁻¹]	σ [μ S cm ⁻¹]	TDS [ppm]
Boljunčica	31.3.2014	15.20	12,3	7,69	100,3	10,88	553,8	492,6
Gabrovški studenec	10.4.2014	11.00	10,8	7,16	79,4	8,86	496,5	441,7
Gračenica	16.1.2014	11.30	9,8	7,95	91,5	10,13	293,3	260,9
Iška	8.1.2014	14.20	5,9	8,29	93,1	10,94	444,5	395,2
Janjuševo vrelo	26.6.2014	15.00	9,2	7,42	81,5	8,92	549,7	489,5
Močilnik	20.5.2014	10.05	10,9	7,60	86,6	9,37	348,0	309,0
Oševsek	13.3.2014	13.55	6,9	7,87	91,1	10,87	236,5	210,7
Podpeški izvir	20.5.2014	12.00	10,5	7,3	91,0	9,92	653,0	404,0
Škofijjski potok	12.3.2014	13.40	9,8	7,75	93,8	10,87	598,1	532,0
Želinjski potok	20.6.2014	11.25	9,1	7,65	90,5	8,27	227,2	202,1

PRILOGA C

Drevo filogenetskih odnosov površinskih in podzemeljskih postranic.



Slika C1: Drevo filogenetskih odnosov 79 taksonov rodu *Niphargus*, izračunanem po Bayesovi metodi na podlagi jedrnega gena za 28S rRNA in mitohondrijskega gena za 12S rRNA. Številke prikazujejo podporo posameznim kladom, izraženo v posteriornih verjetnostih. Taksoni slepih postranic, zajetih v študijo, so označeni z rdečo, površinska vrsta postranice pa z modro barvo. Vrsti *Echinogammarus* cf. *stammeri* ter *Gammarus* cf. *balcanicus* nista prikazani. Prirejeno po Fišer in sod. (2008).

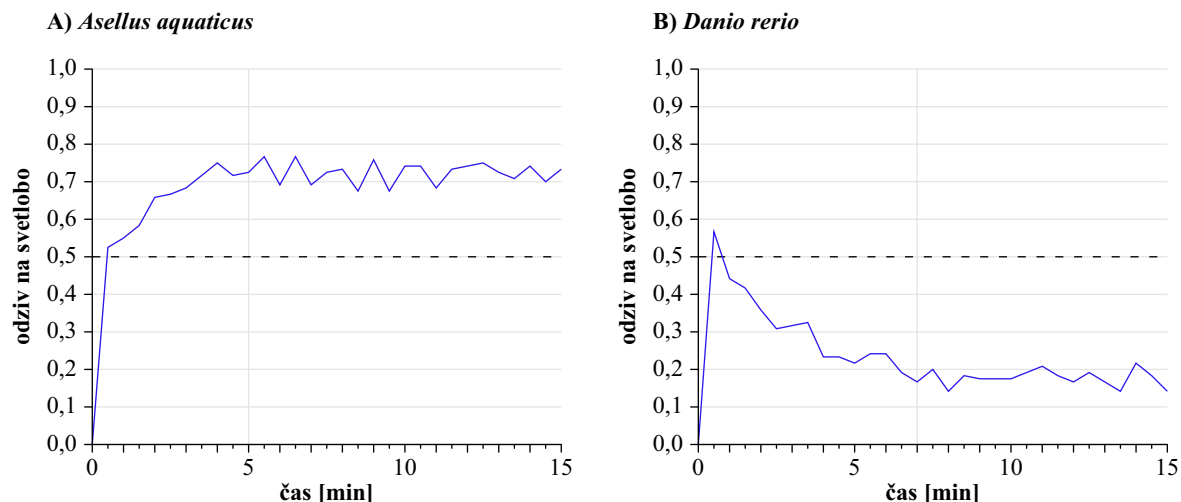
PRILOGA D

Kontrola metodologije merjenja vedenjskega odziva na svetlobo.

Metodologijo za merjenje odziva na svetlobo smo preizkusili na vrstah z že znanim fotofobnim in fotofilnim odzivom. S primerjavo meritev z obstoječo literaturo smo želeli preveriti, ali lahko z zasnovano metodologijo izmerimo poljuben odziv na svetlobo. Za kontrolo merjenja fotofobnega vedenja smo uporabili odrasle vodne osličke (*Asellus aquaticus* Linné, 1758), ki so znani po fotofobnem odzivu (Janzer in Ludwig, 1952). Z osem dni starimi cebricami (*Danio rerio* Hamilton, 1822), ki so v juvenilnem stadiju fotofilne (Brockhoff in sod., 1995; Orger in Baier, 2005), pa smo preverili merjenje fotofilnega odziva.

Živali smo pred meritvami sedem dni aklimirali na dnevno-nočni svetlobni režim (12 h-12 h) pri jakosti svetlobe $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, vodne osličke pri $10 \text{ }^\circ\text{C}$ in cebrice pri $26 \text{ }^\circ\text{C}$. Meritve so potekale pri enaki temperaturi kot aklimacija. Odziv na svetlobo smo izmerili na 20 osebkih vsake vrste po metodologiji, opisani v poglavju 3.3.2. Podatke meritev smo analizirali s posplošenim linearnim mešanim modelom (GLMM), podobno, kot je opisano v poglavju 3.4. Pri vodnem osličku smo iz analize izločili podatke prvih petih minut, pri cebrici pa prvih sedem minut meritev (Slika D1), saj odziv živali takrat še ni bil ustaljen. S tem smo preprečili morebitni vpliv raziskovalnega vedenja na analizo odziva na svetlobo. Delež časa, ki ga je osebek preživel v temi, smo obravnavali kot odvisno spremenljivko. Za neodvisno spremenljivko smo uporabili jakost svetlobe. Osebke smo obravnavali kot naključni učinek ter upoštevali naključno izhodišče in naklon. Vedenjski odziv na svetlobo opisuje logistična krivulja. Izhodišče logistične krivulje opisuje vedenjski odziv živali v temi, pri čemer naključno izbiro med obema polovicama petrijevke predstavljajo statistično neznčilne vrednosti. Naklon logistične krivulje opisuje moč in tip vedenjskega odziva na svetlobo. Fotofobno vedenje predstavljajo statistično značilne pozitivne vrednosti naklona, fotofilno vedenje pa statistično značilne negativne vrednosti.

Vodni oslički so se na svetlobo odzvali fotofobno, juvenilne cebrice pa fotofilno (Preglednica D1; Slika D2). Rezultati meritev so skladni z literaturo (Janzer in Ludwig, 1952; Brockhoff in sod., 1995; Orger in Baier, 2005), na podlagi česar sklepamo, da je metodologija zasnovana ustrezno ter primerna za kvantificiranje poljubnega vedenjskega odziva na svetlobo.

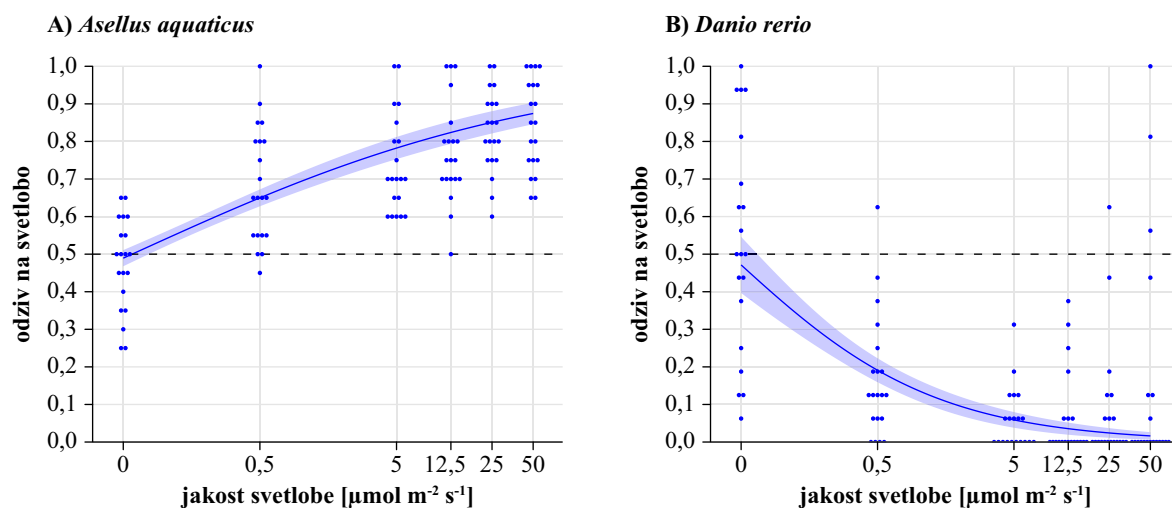


Slika D1: Časovna dinamika vedenjskega odziva na svetlobo pri vodnih osličkih *Asellus aquaticus* (A) in pri juvenilnih cebricah *Danio rerio* (B). Vrednost 0,5 predstavlja fotonevtralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti opisujejo fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.

Preglednica D1: Vedenjski odziv na svetlobo pri vodnih osličkih *Asellus aquaticus* in pri juvenilnih cebricah *Danio rerio*. Statistično značilne pozitivne vrednosti naklona opisujejo fotofobno vedenje, značilne negativne vrednosti pa fotofilno vedenje. Ocene parametrov so izražene v logit skali s pripadajočimi p-vrednostmi.

vrsta	izhodišče	naklon
<i>Asellus aquaticus</i>	-0,043 / 0,844	0,661 / < 0,001 ***
<i>Danio rerio</i>	0,115 / 0,874	-1,328 / < 0,001 ***

*** p < 0,001



Slika D2: Vedenjski odziv na svetlobo pri vodnih osličkih *Asellus aquaticus* (A) in pri juvenilnih cebricah *Danio rerio* (B). Vrednost 0,5 predstavlja fotonevtralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti opisujejo fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.

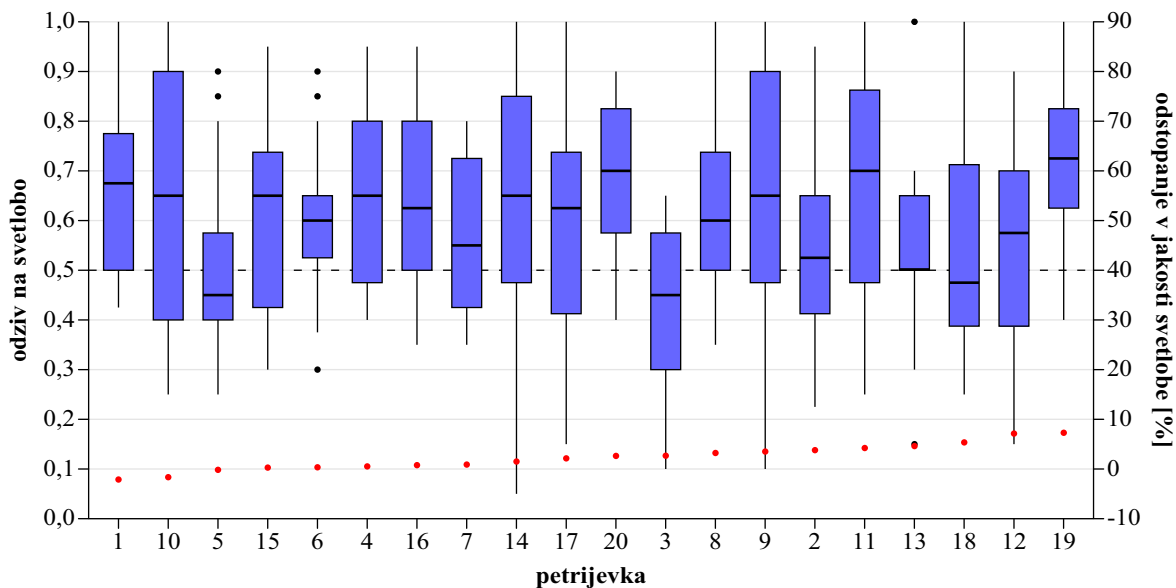
PRILOGA E

Vpliv odstopanj v jakosti svetlobe na meritve vedenjskega odziva.

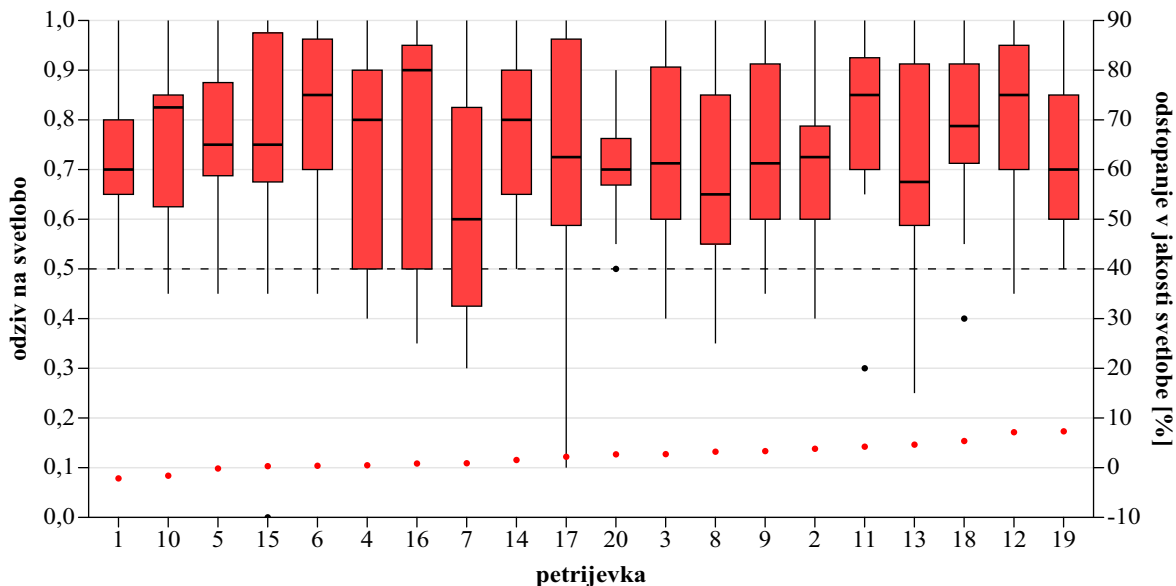
Svetlobno polje nad petrijevkami (glej poglavje 3.3.1; Slika 4.C) je pri poljubni jakosti svetlobe odstopalo za manj kot 10 % (Slika E1; Slika E2). Morebiten vpliv teh odstopanj na meritve smo ocenili s primerjavo vedenjskih odzivov in odstopanj v jakosti svetlobe.

Variabilnost vedenja pri površinskih postranicah (rodova *Gammarus* in *Echinogammarus*) je bila največja pri jakosti svetlobe $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pri podzemeljskih (rod *Niphargus*) pa pri jakosti $0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (glej poglavje 4; Slika 6). Pri teh jakostih zato lahko pričakujemo največji vpliv odstopanj v jakosti svetlobnega polja na vedenje živali, zaradi česar lahko med njima ocenjujemo morebitno vzročno povezavo. Iz analize smo zavrgli podatke prvih petih minut meritev, saj odziv živali takrat še ni bil ustaljen (Priloga F). S tem smo preprečili morebitni vpliv raziskovalnega vedenja na analizo odziva na svetlobo. Podatke preostalih meritev pri omenjenih jakostih smo združili po posamezni petrijevki in ekotipu postranice ter odziv primerjali z odstopanjem v jakosti svetlobe nad petrijevko. Vrednosti v odstopanju jakosti svetlobe so podane kot razlika v odstotkih glede na jakost svetlobe, izmerjene na sredini delovne plošče (glej poglavje 3.3.1; Slika 4.J). V primeru da bi odstopanja v jakosti svetlobe vplivala na vedenje, bi v petrijevkah z višjo osvetlitvijo pričakovali bolj fotofoben, v petrijevkah z manjšo osvetlitvijo pa manj fotofoben odziv.

Med odstopanji v jakosti svetlobe in vedenjskimi odzivi ni bilo premosorazmerne odvisnosti (Slika E1; Slika E2), zato lahko sklepamo, da so bila odstopanja v svetlobnem polju premajhna, da bi vplivala na vedenjski odziv živali. Podobne rezultate navaja tudi Kureck (1964), ki je pokazal, da so bili osebki podvrste *Niphargus aquilex schellenbergi* Karaman sposobni razlikovati med različnimi jakostmi svetlobe, a le če je razlika v osvetljenosti znašala več kot 17 %.



Slika E1: Vpliv odstopanj v svetlobnem polju na vedenjski odziv površinskih postranic (rodova *Gammarus* in *Echinogammarus*). Meritve, izvedene pri jakosti $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, smo združili po petrijevkah. Odstopanje v jakosti svetlobe za vsako petrijevko je podano kot razlika v odstotkih glede na jakost svetlobe, izmerjene na sredini delovne plošče (rdeče pike). Vrednost 0,5 predstavlja fotoneutralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti opisujejo fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.



Slika E2: Vpliv odstopanj v svetlobnem polju na vedenjski odziv podzemeljskih postranic (rod *Niphargus*). Meritve, izvedene pri jakosti $0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, smo združili po petrijevkah. Odstopanje v jakosti svetlobe za vsako petrijevko je podano kot razlika v odstotkih glede na jakost svetlobe, izmerjene na sredini delovne plošče (rdeče pike). Vrednost 0,5 predstavlja fotoneutralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti opisujejo fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.

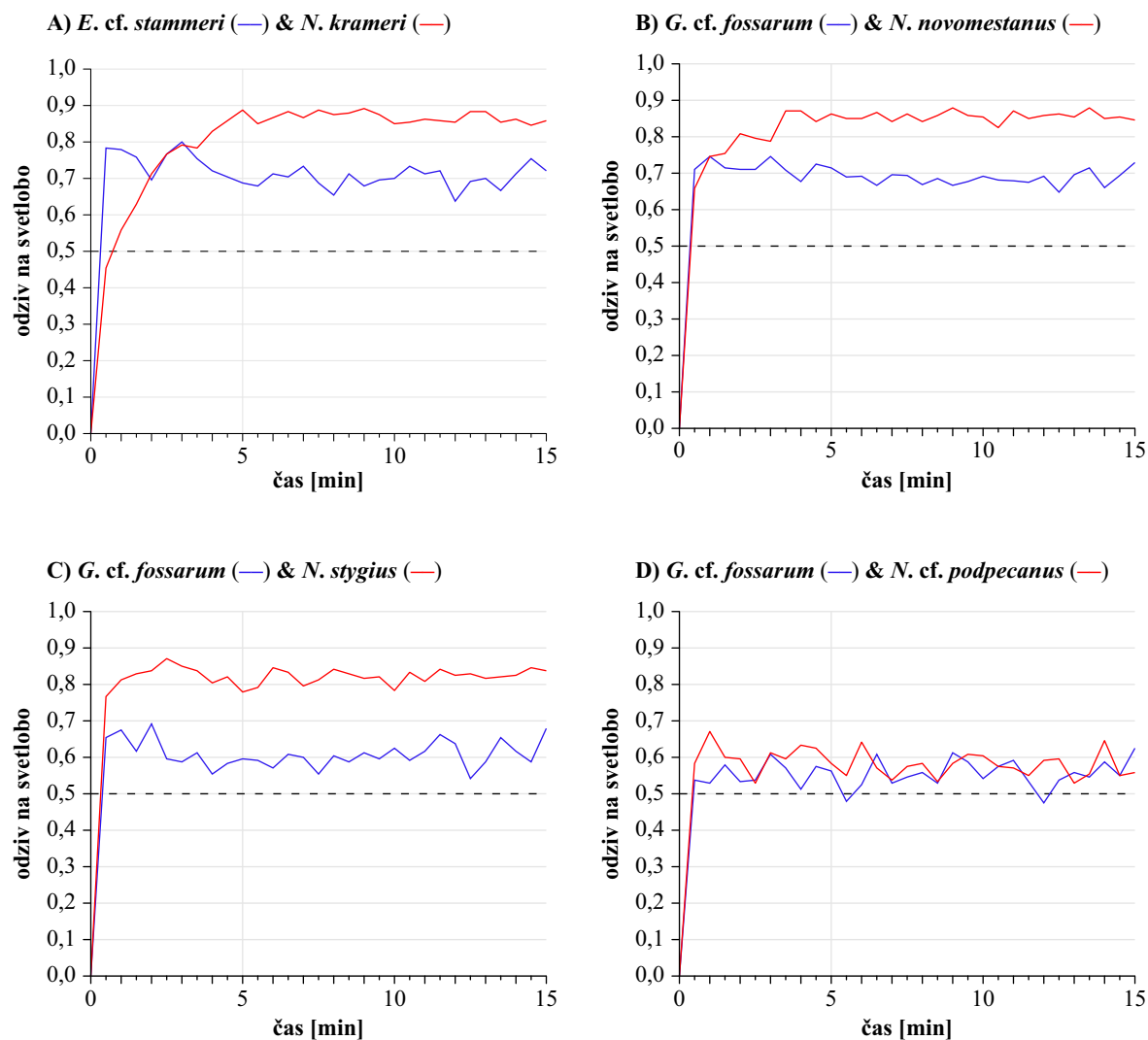
PRILOGA F

Časovna dinamika vedenjskega odziva na svetlobo pri sobivajočih postranicah.

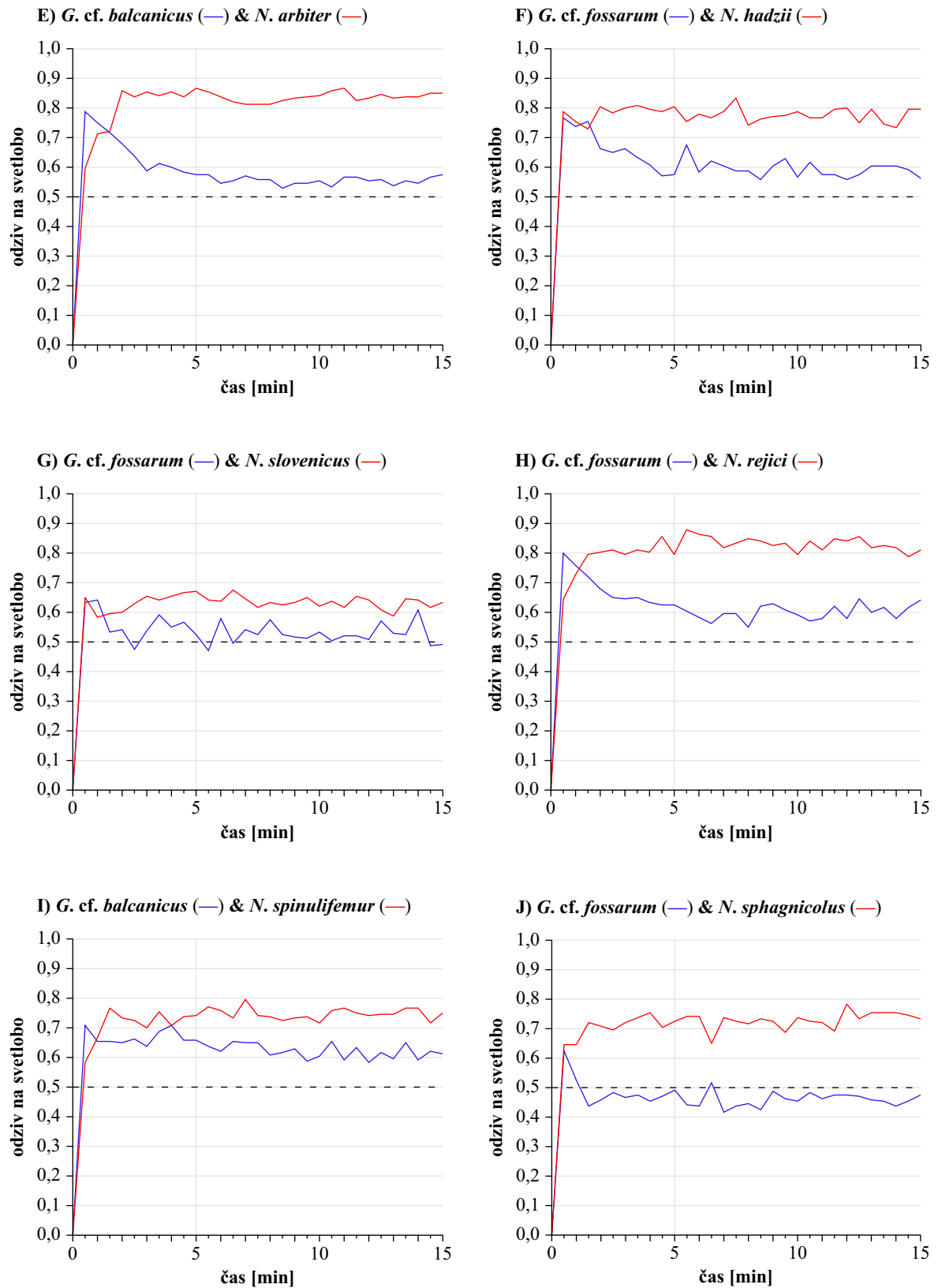
Za vsak analiziran takson smo meritve, izvedene pri vseh jakostih svetlobe, tipih in zaporedjih aklimacij, združili v skupen odziv. Na podlagi časovne dinamike vedenjskega odziva smo ocenili čas prenehanja raziskovalnega vedenja pri posameznem taksonu.

Pri vseh taksonih se je odziv na svetlobo ustalil najkasneje do 5. minute meritev (Slika F1).

Zato smo podatke prvih 5 minut meritev izločili iz analize ter tako preprečili morebitni vpliv raziskovalnega vedenja na analizo odziva na svetlobo.



Slika F1 se nadaljuje na naslednji strani.



Slika F1: Časovna dinamika vedenjskega odziva sobivajočih postranic na svetlobo (A–J). Odziv se pri vseh vrstah ustalil najkasneje do pete minute izpostavljenosti svetlobi. Vrednost 0,5 predstavlja fotoneutralen odziv na svetlobo, nižje vrednosti opisujejo fotofilno, višje pa fotofobno vedenje.