Simbioza u praživotinja

Kajtezović, Najla

Undergraduate thesis / Završni rad

2010

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:463499

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

SIMBIOZA U PRAŽIVOTINJA

SYMBIOSIS IN PROTOZOA

SEMINARSKI RAD

Najla Kajtezović
Preddiplomski studij znanosti o okolišu
(Undergraduate Study of Environmental Sciences)
Mentor: doc. dr. sc. Goran Kovačević

Zagreb, 2010.

ZAHVALE

Najviše hvala **mojoj sestri Sabini** na moralnoj i financijskoj potpori i zato što je strpljivo trpila sve moje biološke pokuse i izreckane knjige o biologiji.

Hvala **Rusi** i **Rusmiru** što su bezrezervno vjerovali u mene, **mami** koja me je naučila da svako živo biće treba poštovati i mom **tati**.

Hvala **Vedranu Šegi** i **Nesi Šimičić** što su mi dali hrabrosti da dođem u Zagreb i bili moja potpora tijekom cijelog studija, **Lavoslavu Čakloviću** i **Dei Horvat** što su me uvijek podsjećali da se u Prirodi skriva mnogo više od materije, **Vedrani Klajn** na vječitom optimizmu koji je tako nesebično dijelila, **Mili Karlici** na ljubavi i potpori, **Nataši Štrabić** na potpori i pomoći oko, mrske mi, statistike.

Hvala **dr.sc. Vesni Svetličić** jer mi je otkrila da u svakom od nas spava radoznali znanstvenik, **doc.dr.sc. Renati Matoničkin-Kepčija** jer mi je preporučila mnoge zanimljive članke i strpljivo slušala moje priče o zrakašima**.**

Hvala **doc.dr.sc. Draginji Mrvoš-Sermek, Andreji Brigić, dipl. ing, dr.sc. Marku Miliši i dr.sc. Kristini Pikelj** na riječima potpore koje su njima možda bile beznačajne, ali su meni bile neprocjenjive.

Hvala i **Maji Filipović** i **Draganu Škoriću** što me tjeraju da se više smijem i što toleriraju moje dr.-Dolittle-šumske-podvige.

Hvala **Romanu Murru** i **Lani Vidmar** kao i svima onima koji su me obogatili i doveli do ovog trenutka.

I na kraju puno hvala mom mentoru **doc.dr.sc. Goranu Kovačeviću** jer u studentima uvijek vidi ono najbolje, hvala na brižljivo prenesenom znanju iz evolucije i najviše hvala na pomoći oko pisanja ovog završnog rada: na razumijevanju, slobodi da samostalno istražujem u prašumi literature, ključnim člancima i vrlo jasnim smjernicama.

SADRŽAJ

1. UVOD.....1
2. SIMBIOZA U PRAŽIVOTINJA.....2
   2.1. Simbioza u koljenu Ciliophora (trepetljikaši).....7
   2.2. Simbioza u koljenu Sarcodina (sluzavci).....11
   2.3. Simbiotske bakterije i trepetljikaši u buragu preživača.....13
   2.4. Praživotinjski simbionti u kukcima.....14
   2.5. Simbioza praživotinja i biljaka.....14
3. LITERATURA.....16
4. SAŽETAK.....19
5. SUMMARY.....20

1. UVOD

Svaki organizam, zauzimajući određenu nišu, nastoji se što bolje prilagoditi na abiotičke i biotičke čimbenike. Stupanje u simbiozu otvara potpuno novo mjesto u niši, koje je nedostupno organizmima koji nisu odabrali tako blizak suživot, kao i samim slobodnoživućim organizmima prije postizanja tog stupnja integracije. On nerijetko nosi sa sobom i neka žrtvovanja (kao što su nemogućnost samostalnog obavljanja nekih biokemijskih procesa), no ona su često manja od ukupnog dobitka, a to je sposobnost zauzimanja nove niše. Kao primjeri simbioze najčešće se navode višestanični organizmi (najbolji primjer za to je simbioza moruzgve i raka samca) kod kojih je vrlo lako pojmiti funkcije te simbioze čak i bez nekog pomnijeg znanstvenog proučavanja. U slučaju praživotinja nije moguće na prvi pogled zaključiti koje su to sve prilagodbe sudionika simbioze, jer se radi o organizmima čija je mala veličina i dalje ograničavajući čimbenik prilikom istraživanja. Međutim, u tom mikroskopskom svijetu krije se iznenađujuća raznolikost oblika, funkcija, veličina, pa čak i boja. Praživotinje i njihove simbionte možemo naći od hidrotermalnih otvora, suncem obasjanih pelagičkih voda oceana pa sve do mračnog spleta korijenja. Koliko god spretno su praživotinje zauzele sva staništa na Zemlji, u simbiotskim asocijacijama uspjele su napraviti i jedan korak dalje.

2. SIMBIOZA U PRAŽIVOTINJA

Praživotinje (Protozoa) su pripadnici carstva Protista. Njihova evolucija je započela otprilike prije 1,6 milijardi godina. (http://www.morning-earth.org/) To su eukariotski, u pravilu heterotrofni, organizmi. Sve životne funkcije su organizirane na jednostaničnoj razini te zbog toga imaju složeniju građu od pojedinačnih stanica mnogostaničnih organizama. Veličina im varira od 2 do 4500 μm za solitarne i po nekoliko metara za kolonijalne oblike. (Habdija i sur. 2003; http://www.viveka.math.hr/~najla/) S obzirom na različitost njihovih oblika, veličine, građe tijela i načina života, praživotinje su vjerojatno najraznolikija skupina organizama, koja obuhvaća oko 25 000 vrsta. Nastanjuju mora (npr. krednjak *Globigerina bulloides*; zrakaš *Zygocircus productus*), vode na kopnu (npr. sunašce *Actinosphaerium eichorni*, trepetljikaš *Stylonyhia mytilus*) i vlažno tlo (npr. gole amebe *Acanthamoeba castellanii* i *Hartmanella vermiformis*) gdje se hrane fagocitozom (npr. trepetljikaš *Vorticella campanula,* zrakaš *Lithomelissa thoracites*). Neki od njih su nametnici (npr. bičaši *Trypanosoma brucei* i *Leishmania tropica*), a postoje i fotoautotrofni oblici (npr. bičaši *Dinopysis sphaerica* i *Ceratium macroceros*) te saprozoički oblici (npr. gola amebe *Amoeba proteus*). Najjednostavnija podjela praživotinja je na pet koljena**:** Mastigophora ili Flagellata (bičaši), Sarcodina (sluzavci), Sporozoa ili Apicomplexa (truskovci), Cnidospora i Ciliophora (trepetljikaši). (Habdija i sur. 2003)

Simbioza je odnos u kojem različite vrste žive u bliskoj asocijaciji. Pozitivan odnos se pojavljuje kada ta interakcija niti jednoj vrsti nije škodljiva, a dobrobit je veća od plaćene cijene za bar jednu vrstu (npr. nesposobnost vrste *Amoeba proteus* da obavlja neke metaboličke funkcije vezane uz jezgru bez simbiotskih bakterija), a također može imati bolju vijabilnost od aposimbiotskih jedinki (npr. zrakaši u oligotrofnim morima). Oblici simbioze su: mutualizam (odnos koristan za obje vrste), komenzalizam (odnos koji je za jednu vrstu pozitivan, a za drugu neutralan), amenzalizam (odnos koji je za jednu vrstu negativan, a drugu neutralan) i parazitizam (odnos koji je za jednu vrstu pozitivan, a za drugu negativan). Mutualizam može, ali ne mora, biti specifičan za točno određene vrste, može biti obligatan ili fakultativan, a može i ne mora biti koevoluirajući, dok je komenzalizam fakultativan za vrstu koja ne profitira i ne stupa u koevoluciju sa svojim

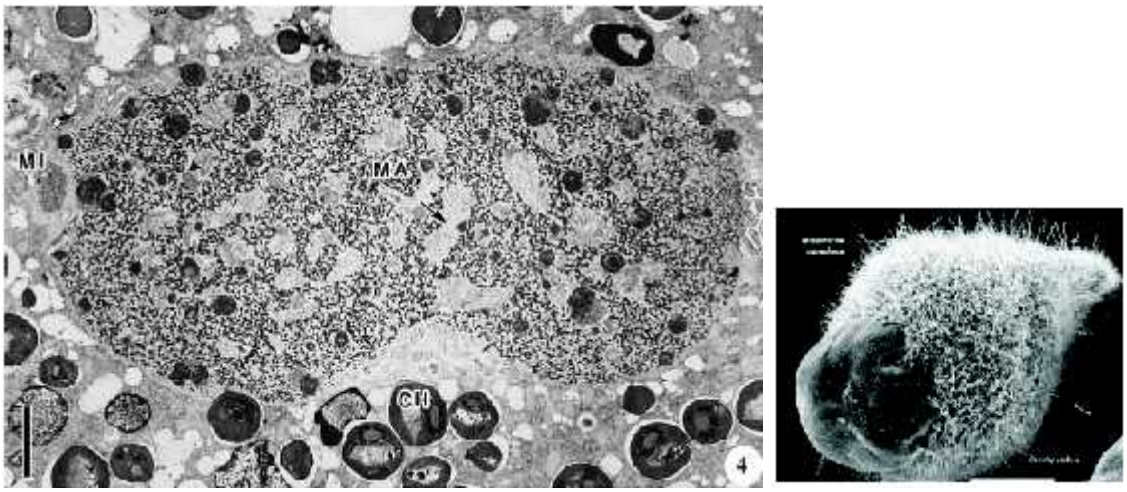
simbiontom. Simbioza je prisutna u svim carstvima života. (Cain i sur. 2008) Simbioza u praživotinja je specifična po tome što se radi o jednostaničnim eukariotskim organizmima koji mogu stupati u simbiozu s drugim jednostaničnim organizmima (prokariotima ili eukariotima) kada praživotinje, zbog njihove veličine, možemo nazivati domaćinima. Kad se radi o simbiozi s višestaničnim organizmima (preživačima, nižim termitima i nekim skupinama žohara), praživotinjske simbionte možemo nazvati gostima jer se nalaze unutar tijela životinje (u njihovom probavnom sustavu), a višestanični organizam domaćinom. Simbioza s višestaničnim organizmima specifična je po tome što se dobrobit za domaćina temelji na aktivnostima bakterijskih simbionata u praživotinja (npr. simbiotske bakterije unutar praživotinja u crijevu termita koje razgrađuju celulozu), ali i ostalih slobodnoživućih bakterija u probavnom sustavu ovih organizama. Drugim riječima, praživotinje su istovremeno i domaćini (za bakterije) i gosti (u višestaničnim organizmima). Simbionti-gosti su najčešće vrlo brojni, a njihov broj ovisi o veličinskom odnosu gost-domaćin. S obzirom na položaj jednostaničnih simbionata (gosti, npr. alge i bakterije) u odnosu na domaćina (praživotinja), simbioza u praživotinja može biti endosimbioza (kada se simbionti nalaze unutar citoplazme domaćina) ili ektosimbioza (kada se simbionti nalaze izvan citoplazme praživotinjskog domaćina).

Položaj endosimbionta-gosta može varirati kod pojedinih organizama. On može biti smješten u citoplazmi (zrakaš *Collosphaera globularis* i alge) ili u organelima kao što su makronukleus (trepetljikaš *Spirostomum minus* i bakterije), mikronukleus (trepetljikaš *Paramecium caudatum* i bakterije), mitohondriji (trepetljikaš *Urotricha ovata* i bakterije), kontraktilnom sustavu domaćina (*Spirostomum minus* i bakterije) ili čak u perinuklearnom prostoru (trepetljikaš *Paramecium duboscqui* i bakterije). Raspored može biti točno lociran s obzirom na položaj hranidbenog aparata (npr. kod trepetljikaša), a ovisi i o prisutnosti i specifičnoj građi skeleta kod određenih skupina (npr. kod zrakaša). (Fokin i sur. 2005; Takahashi i sur. 2003; Görtz 2001)

Pojavljivanje simbioze s algama i cijanobakterijama je ograničeno na fotičku zonu, dok se simbioza s bakterijama javlja i u afotičkim zonama.

Kod nekih praživotinja simbionti-gosti mogu biti pripadnici jedne vrste (npr. *Paramecium bursaria* i *Chlorella vulgaris*.). No postoje i primjeri kada u jednom domaćinu žive simbionti koji pripadaju različitim carstvima života (npr. trepetljikaš

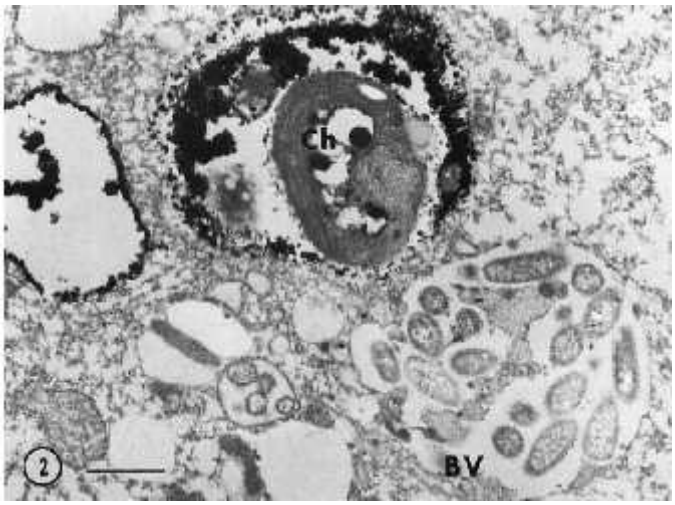
Frontonia leucas koji u citoplazmi ima simbiotske alge roda *Chlorella* sp., a u makronukleusu ima simbiotske α-proteobakterije) (Slika 1.lijevo). (Fokin i sur. 2003) Još je zanimljiviji primjer u praživotinja roda *Mixotricha* koje se nalaze u crijevu termita (Slika 1.desno), a istovremeno imaju četiri skupine simbionata: tri vrste bakterija (spirohete) na površini stanice koje ju pokreću i jednu vrstu endosimbiotskih bakterija koje vrše funkciju mitohondrija.
(http://faculty.uca.edu/benw/biol4415/presentations/lect12.pdf)



Slika 1. Trepetljikaš *Frontonia leucas* i intracelularni simbionti: CH - *Chlorella* sp. u citoplazmi i simbiotske α-proteobakterije (strelica) u makronukleusu. Crtica predstavlja 4.5 µm. (lijevo) (Fokin i sur. 2003); *Mixotricha paradoxa* i tri vrste ektosimbiotskih bakterija (desno) (http://faculty.uca.edu/benw/biol4415/presentations/lect12.pdf)

Još jedna od specifičnosti simbioze u praživotinja jest činjenica da se one hrane jednostaničnim organizmima. Postavlja se pitanje kako simbiotska praživotinja prepoznaje potencijalne simbionte. To se događa zbog specifičnih mehanizama koji omogućavaju prepoznavanje između praživotinje i simbionta te na taj način sprječavaju razgradnju u probavnim mjehurićima. Razlika između vezikula u kojima se događa probava i vezikula u kojima su smješteni simbionti može se vidjeti na Slici 2. Prikazana je vezikula u kojoj se događa probavljanje alge *Chlorella* sp. Prema reakcijskim produktima koji nastaju tijekom probavljanja (tamnije obojeno područje na rubovima

vezikule), vidljivo je da se ne radi o simbiozi za razliku od druge vezikule u kojoj se nalaze simbiotske bakterije i u kojoj nema tragova probavljanja. (Jeon i sur. 1976)



Slika 2. Vezikula s algom *Chlorella* sp. (Ch) u kojoj se događa probava i vezikula (BV) u kojoj se nalaze simbiotske bakterije (Jeon i sur. 1976)

U slučaju simbioze trepetljikaša *Paramecium bursaria* s algom *Chlorella* sp., prepoznavanje simbionta se događa zahvaljujući lektin/glikan interakcijskom mehanizmu vezanom za vanjske membrane ovih organizama. Alge se u trepetljikašu nalaze u perialgalnoj vakuoli koja se još zove simbiosom i štiti je od stapanja s lizosomima. Membrana simbiosoma ima drugačiju strukturu od strukture probavnih vakuola i ne sadrži kiselu fosfatazu kao probavne vakuole. (Kovacevic i sur. 2009) Nakon što je simbioza između trepetljikaša i alge ostvarena, simbionti se u idućim generacijama prenose binarnom diobom stanice domaćina koju prati i binarna dioba simbionta. Kod vrste *P. bursaria* je primijećena povezanost između strujanja citoplazme, tijekom kojeg citoplazmatske granule i simbionti struje u točno određenom smjeru pod utjecajem mikrotubula, i dijeljenja simbionata. Dijeljenje trepetljikaša počinje tek kada se to strujanje zaustavi. Zabilježeno je da se simbiotske alge također dijele isključivo u tom periodu i na taj način se održava približno jednak broj simbionata u idućim generacijama. Moguće je da je to jedan od mehanizama kojim trepetljikaš kontrolira broj simbiotskih algi. (Takahashi i sur. 2007)

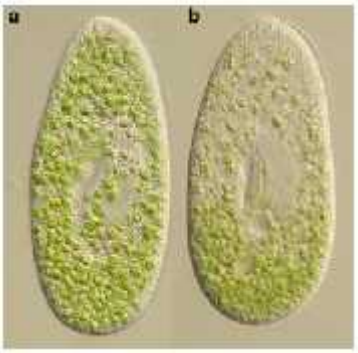
Pretpostavlja se da su mutualizam i komenzalizam proizašli iz pokušaja parazitizma. Dobar primjer koji pokazuje kako je moguć prijelaz između parazitizma na mutualizam je niz eksperimenata koje je od 1966. godine provodio Kwang Jeon s vrstom *Amoeba proteus* i nametničkim štapićastim bakterijama. Bakterije su spontano inficirale svaku amebu. U početku je taj utjecaj bio negativan: domaćin je ponekad ugibao, inficirane jedinke bile su manje veličine od neinficiranih, rasle su sporije i puno su teže podnosile manjak hrane. Pet godina poslije bakterije su evoluirale tako da su postale bezopasne za amebu, a ameba je evoluirala tako da je njena jezgra postala ovisna o bakteriji kako bi mogla obavljati normalne metaboličke funkcije. Serija eksperimenata nakon toga je pokazala da niti jedna vrsta više ne može preživjeti neovisno jedna o drugoj, tj. odnos je iz parazitskog prešao u obligatni mutualizam u kojem je jasna dobrobit – sposobnost preživljavanja. (Cain i sur. 2008)

Simbioza je najbolje istražena u koljena Ciliophora i Sarcodina, a ne javlja se jedino u praživotinja iz koljena Sporozoa i Cnidospora čiji pripadnici su obligatni paraziti. (Habdija i sur. 2003)

2.1. Simbioza u koljenu Ciliophora (trepetljikaši)

Endosimbioza između trepetljikaša i jednostaničnih algi roda *Chlorella* spada u najbolje proučene simbioze u praživotinja. Alga od trepetljikaša dobiva ugljikov dioksid i anorganske nusprodukte metabolizma, ali i fizičku zaštitu od predatora. Trepetljikaš od alge dobiva velike količine ugljikohidrata koji ga mogu potpuno ili djelomično učiniti neovisnim o vanjskim izvorima hrane. Važna uloga alge je i u opskrbljivanju trepetljikaša kisikom. Kada alge dobivaju optimalnu količinu svjetlosti, kisik nastao fotosintezom dovoljan je za respiraciju trepetljikaša, dok se neiskorišteni dio ispušta u okoliš. Smatra se da je najveća dobrobit ove simbioze povećanje sposobnosti preživljavanja u razdoblju kada trepetljikaš nema dovoljno hrane, odnosno kada postoji nedostatak nutrijenata za algalnog simbionta. Ova simbioza je osobito važna u oligotrofnim slatkovodnim i morskim okolišima. Međutim, veliki broj trepetljikaša sa simbiontima nađen je i u eutrofnim jezerskim vodama u granici oksičnih i anoksičnih slojeva vode. Primijećeno je da neki trepetljikaši s algama manje naseljavaju površinske slojeve vode u odnosu na one dublje. Smatra se da je razlog tome smanjena opasnost od predatora (Metazoa) koji su rjeđi u dubljim zonama siromašnijim kisikom i veća koncentracija nutrijenata. Zabilježeno je i da su aposimbiotski trepetljikaši (*Paramecium bursaria* i *Climacostomum virens*) izloženiji predaciji nego trepetljikaši koji su imali simbiotske alge roda *Chlorella*. (Sommaruga i sur. 2009)

Još jedan od aspekata simbioze s algama jeste zaštita od UV zračenja. Iako trepetljikaši posjeduju mehanizme koji ih štite od štetnog djelovanja UV zračenja, prisutnost simbionata može imati pozitivan efekt. Kada su trepetljikaši vrste *Paramecium bursaria* izloženi jakom UV zračenju, alge se preorijentiraju u stanici domaćina tako da naprave *sjenu* koja štiti trepetljikaša kao što je to vidljivo na Slici 3.

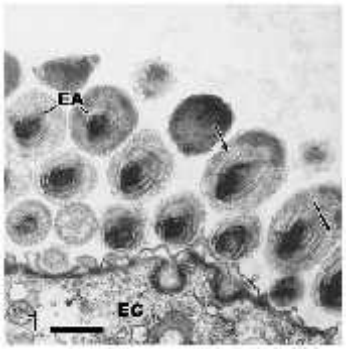


Slika 3. Raspored simbiotskih algi kada nije prisutno UV zračenje (a) i pod utjecajem UV zračenja - alge orijentirane u *štit* (b) (Sommaruga i sur. 2009)

Negativna posljedica prisustva velikog broja algi jeste hiperoksigenacija te su trepetljikaši razvili posebne mehanizme kojima sprječavaju negativne posljedice prevelike koncentracije kisika, kao i preveliku potrošnju kisika kada alge ne vrše fotosintezu. (Sommaruga i sur. 2009)

Primjer za ektosimbiozu s bakterijama jesu trepetljikaši roda *Euplotidium.* Njihovo uobičajemo stanište jest pijesak. Ektosimbionti, koji se kod ovog roda nazivaju još i epiksenosomi, se nalaze na dorzalnoj strani korteksa trepetljikaša. Odrasli epiksenosomi imaju vrlo kompleksu građu (neuobičajenu za prokariote). DNA je smještena u kupolastoj apikalnoj zoni, dok citoplazma sadrži ekstrusivni aparat (koji izgleda kao vrpca omotana oko centralne jezgre) i *košaru* građenu od materijala koji je građen slično kao mikrotubuli. (Slika 4.) Simbioza s bakterijama je konstantna u prirodi, a lako se održava i u laboratorijskim uvjetima u kulturama koje imaju dovoljan pristup hrani. Kada je trepetljikaš izložen polaganom izgladnjivanju i njegov stanični ciklus je usporen, on gubi simbionte. Gubitak simbionata ne utječe na ponašanje trepetljikaša niti na sposobnost razmnožavanja, međutim simbiotske bakterije nisu pronađene kao neovisni organizmi i nije ih bilo moguće uzgojiti u laboratorijskim uvjetima bez simbionata. Pretpostavlja da je prisutna određena koevolucija između simbionata i domaćina pošto se epiksenosomi kod različitih domaćina genetički vrlo malo razlikuju. Važna uloga bakterijskog ektosimbionta je u obrani organizma od predatora. Napravljen je eksperiment u kojem je promatrano kako se predatorski trepetljikaš *Litonotus lamella*

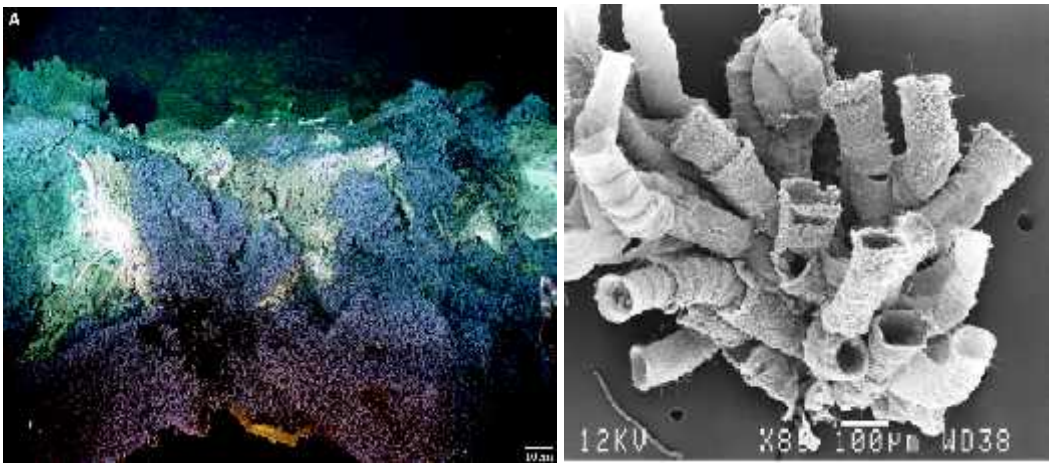
ponaša pri odabiru plijena s obzirom na prisutnost ektosimbionata. U kulturu su stavljeni trepetljikaši *Euplotes crassus* (bez simbionata) i *Euplotidium itoi* (bez simbionata). Predatorski trepetljikaš *L. lamella* prvo vrlo brzo pojede sve jedinke vrste *E. carassus*, a tek nakon toga počinje nešto sporije jesti jedinke *E. itoi*. Iz toga se može zaključiti da je preferirani plijen *L. lamella* trepetljikaš *E. carassus*, ali da se hrani i trepetljikašima vrste *E. itoi*. Međutim, kada se u kulturi nalaze *E. carassus* (bez simbionata) i *E. itoi* (sa simbiontima), *E. itoi* nikada ne bude pojedena što potvrđuje hipotezu da su epiksenosomi vrlo bitni za ove trepetljikaše u prirodi jer im služe kao obrana od predatora. (Vannini i sur. 2003)



Slika 4. Mikrotubulima slične strukture u bakterijskih ektosimbionata u trepetljikaša roda *Euplotidium* (EA – ekstrusivni aparat, EC – citoplazma vrste *Euplotidium* sp.) Crtica predstavlja 1 μm. (Vannini i sur. 2003)

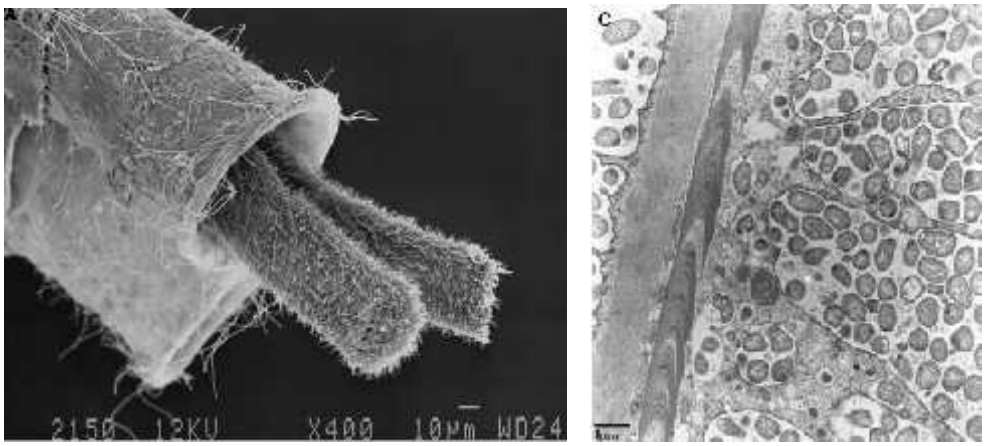
Drugi primjer je kozmopolitska morska vrsta *Euplotes magnicirratus* kod koje je proučavana simbioza s bakterijama roda *Devosia*. Simbiotske bakterije nije bilo moguće uzgojiti u laboratorijskim uvjetima izvan trepetljikaša. Eksperimentalno je dokazano da *E. magnicirratus*, nakon što ostane bez simbiotskih bakterija, ne može probavljati svoj plijen (*Dunaliella tertiolecta*) te je osuđen na smrt. (Vannini i sur. 2003)

Simbioza trepetljikaša i bakterija u području dubokomorskih hidrotermalnih otvora prvi put je opisana 2006. godine. Folikulidni kolonijalni trepetljikaši roda *Follicunilopsis* na morskom dnu u blizini hidrotermalnih otvora Juan de Fuca grebena rade karakteristične plave *tepihe* (Slika 5.) kojima prekrivaju velike površine oko hidrotermalnih otvora.



Slika 5. Kolonije trepetljikaša roda *Follicunilopsis* na morskom dnu (lijevo); izgled segmenta kolonije (desno) (Couris i sur. 2007)

Nizovi kokoidalnih i nitastih bakterija nađeni su na površini lorike, između redova trepetljika na površini trepetljikaša, te osobito oko peristomalne regije, ali nije dokazano da se radi o simbiontima (iako postoje jasne indicije da bi se moglo raditi o simbiozi). Nakupine kokoidalnih bakterija (od tri do preko trideset) u pravilno raspoređenim vakuolama i izvan njih nađene su unutar citoplazme trepetljikaša (Slika 6.).



Slika 6. Lorika i peristomalna regija vrste *Follicunilopsis* sp. prekriveni bakterijama (lijevo); simbiotske bakterije u vakuolama unutar citoplazme (desno) (Couris i sur. 2007)

Sličnost ovakvog rasporeda bakterija s ostalim slučajevima simbioze u praživotinja upućuje da se radi o simbiotskim bakterijama. (Kouris i sur. 2007)

2.2. Simbioza u koljenu Sarcodina (sluzavci)

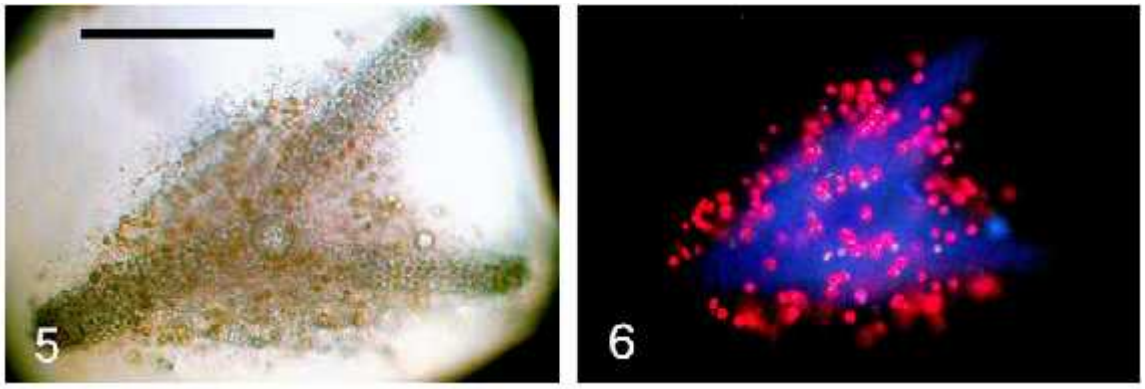
Simbioza u planktonskih morskih sluzavaca (zrakaši, krednjaci i akantariji) je poznata više od jednog stoljeća, ali detaljnija istraživanja simbionata i njihova determinacija su novijeg datuma. Identifikacija simbionata je vrlo problematična jer alge u simbiontu često promijene svoje morfološke karakteristike (npr. gubitak biča, teka ili promjene veličine) koje služe za determinaciju. Još jedan od problema je i kontaminacija uzoraka koja je kod ovih organizama vrlo česta zbog njihove krhke građe. Prilikom uzorkovanja često dolazi do oštećenja stanice sluzavaca te se unutar organizma, osim simbiotskih algi, mogu naći i slobodnoživuće alge iz uzorka ili se alge koje su netom ingestirane mogu pogrešno proglasiti simbiontima. Zbog toga su neki simbionti samo determinirani do širih sistematskih kategorija na osnovu oblika plastida ili struktura jezgre. Najčešći simbionti su: Dinoflagellata (svjetleći bičaši), Prasinophyta i Chrysophycophyta (uključujući Chrysophyta, Bacillariophyta i Prymnesiophyta). (Gast i sur. 2001)

Zrakaši (Radiolaria) se smatraju najkompleksnijim praživotinjama. Stanica im je podijeljena perforiranom središnjom čahurom na intrakapsulu i ekstrakapsulu (iz koje se pružaju pseudopodiji). Grade kompleksne skelete od silicijevog dioksida. (http://www.viveka.math.hr/~najla/) Simbioza u zrakaša je vrlo česta kod oblika koji žive u fotičkoj zoni. Prema mjestu pojavljivanja možemo ih dijeliti na simbionte koji se nalaze: u gustoj mreži pseudopodija pod tankim slojem citoplazme na samoj površini organizma (http://www.ucmp.berkeley.edu/protista/radiolaria/radmm.html), po cijeloj ekstrakapsuli više ili manje koncentrirani na pojedinim zonama u odnosu na skelet kao što je prikazano na Slici 7. (Takahashi i sur. 2003) ili, jako rijetko, u intrakapsuli. (Anderson 1992)

Najčešća je simbioza sa svjetlećim bičašima. Svjetleći bičaš se nalazi zatvoren u tankoj opni citoplazme koju čine rizopodiji na površini zrakaša. U toj zajednici zrakaš daje amonijak i ugljikov dioksid za svijetlećeg bičaša, a za uzvrat dobiva želatinoznu

opnu koja služi zrakašima i simbiontima kao zaštita i za hvatanje plijena. Simbioza s drugim simbiontima je nešto manje istražena. Kada postoji nedostatak hrane, alge mogu opskrbljivati domaćina s potrebnim hranjivim tvarima što ga može učiniti gotovo neovisnim o vanjskim izvorima hrane, te na taj način može izdržati nekoliko tjedana bez hrane. Simbioza može također smanjiti kompeticiju između individua u koloniji Radiolaria. (http://www.ucmp.berkeley.edu/protista/radiolaria/radmm.html)

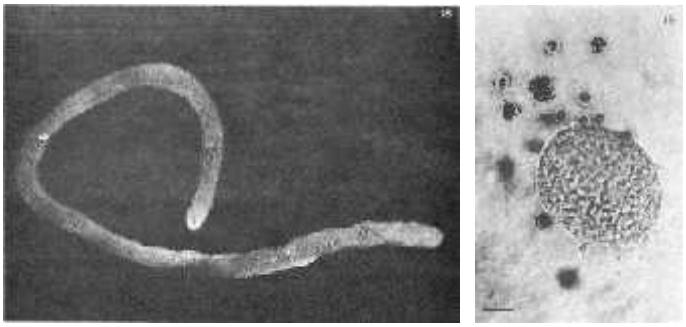
Neka istraživanja su pokazala da kod nekih zraša simbiont tijekom dana bude jako daleko u mreži pseudopodija, dok se po noći vraća dublje u unutrašnje dijelove stanice domaćina. (Kling i sur. 2002) Veličina simbionata u solitarnih oblika je u pravilnoj korelaciji s veličinom domaćina. Tako vrste velike oko 500 μm imaju simbionte velike oko 8-10 μm, dok vrste velike oko 150 μm imaju simbionte velike oko 5 μm. (Takahashi i sur. 2003)



Slika 7. Simbiotske alge u vrste *Euchitonia elegans* pod svjetlosnim mikroskopom (lijevo) i pod epifluorescencijskim mikroskopom (desno). Crtica predstavlja 200 μm. (Takahashi i sur. 2003)

Simbioza s algama je prisutna i kod kolonijalnih zrakaša. Alge se nalaze u ekstrakapsuli. Kolonijalni i solitarni zrakaši imaju jako veliki značaj u oligotrofnim morskim okolišima u kojima njihovi algalni simbionti značajno doprinose primarnoj produkciji, ali i iznimno velika raznolikost i gustoća jedinki u oligotrofnim vodama se također najvećim dijelom pripisuje kvalitetno uspostavljenoj simbiozi. (Caron i sur. 1995; Swanberg 1983)

Simbioza u kolonijalnih zrakaša predstavlja unikatne primjere simbioze zbog veličine kolonija. Tako na primjer kolonije zrakaša *Collozoum longiforme* mogu biti duge tri metra i široke 7 mm u kojima se nalazi i do 10^{15} intrakapsula. Svaka intrakapsula može biti okružena s do čak 50 simbiotskih algi (velikih oko 15 μm) koje čine znatan dio biomase same kolonije. Iako veličina kolonija, a time i broj centralnih kapsula i simbionata po koloniji, u prirodi jako varira (Slika 8.), njihov značaj je izuzetno velik. (Swanberg 1979)



Slika 8. Kolonijalni zrakaš *Collozoum longiforme*: kolonija duga 15 cm i široka 6 mm (lijevo) i centralna kapsula zrakaša okružena sa samo 17 simbiotskih algi (crtica predstavlja 20 μm) (desno) (Swanberg 1979)

2.3. Simbiotske bakterije i trepetljikaši u buragu preživača

Preživači su biljojedi koji imaju želudac podijeljen na četiri odjeljka koji im omogućuju da, uz pomoć mikroorganizama (bakterija, gljivica, praživotinja) i enzima, probavljaju celulozu (i neke druge ugljikohidrate) koju inače ne bi mogli probaviti. Simbioza u praživotinja u ovom slučaju je specifična po tome što su oni u isto vrijeme simbionti-gosti (za preživača) i simbionti-domaćini (za bakterije). Unutar buraga se nalaze trepetljikaši (*Diplodinium* sp., *Entodinium* sp., *Ophryoscolex* sp.) i obligatne aerobne bakterije (*Ruminococcus albus, R. flavefaciens* itd.). Kao rezultat anaerobnog okoliša, bakterije fermentacijom proizvode masne kiseline, ugljikov dioksid i vodik koje nakon toga koriste metanogene bakterije (*Methanobacterium ruminatium*). (http://newworldencyclopedia.org/entry/Symbiosis)

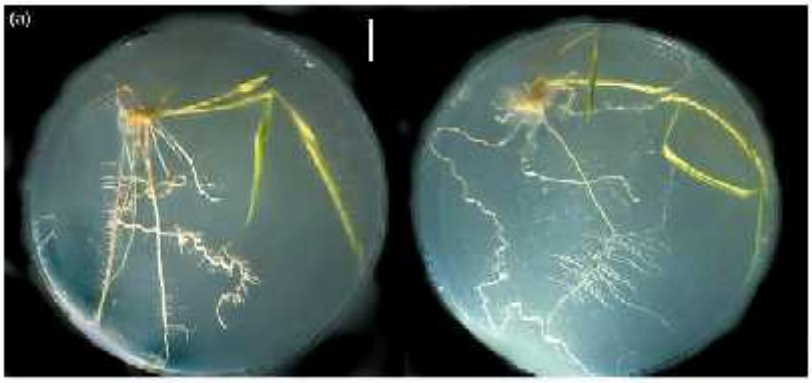
2.4. Praživotinjski simbionti u kukcima

Kukci kao što su niži termiti i skupina žohara koji se hrane drvetom (Crypticercus) također imaju simbiotske praživotinje (*Caduceia*, *Trichonympha*, *Mixotricha*) u svom probavnom traktu. Simbioza u praživotinja u ovom slučaju je specifična po tome što su oni u isto vrijeme simbionti-gosti (za termita ili žohara) i simbionti-domaćini (za bakterije). U japanskog podzemnog termita (*Reticuliformes aperatus*) pojedene sitne komadiće drva ingestiraju praživotinjski simbionti (*Trichonympha agilis*) i razlažu ih na jednostavnije šećere (glukozu) te opskrbljuje svoje endosimbiotske bakterije. Bakterije fiksiraju elementarni dušik i sintetiziraju aminokiseline i vitamine te njima opskrbljuje domaćina – praživotinju, ali i termita. Bakterije proizvode još i octenu kiselinu i vodik iz šećera, a praživotinje, uz octenu kiselinu i vodik, izlučuju i ugljikov dioksid. Izlučena octena kiselina služi termitu kao izvor energije. (http://faculty.uca.edu/benw/biol4415/presentations/lect12.pdf; http://rikenresearch.riken.jp/eng/frontline/6132)

2.5. Simbioza praživotinja i biljaka

Rizosfera je komplesan sustav u tlu u kojem dolazi do interakcije korijenja biljaka s mikroorganizmima (mikorizne gljive, rizobakterije itd.) i grabežljivcima kao što su praživotinje (amebe, trepetljikaši) i oblići (Nematodes) koji mogu biti bakterivori ili se hrane praživotinjama te su vršni predatori u rizosferi. Biljke troše jedan dio fiksiranog ugljika na svoje simbionte u korijenju kao što su mikorizne gljive ili ga izlučuju preko korijenja za slobodnoživuće rizobakterije. Brojnost rizobakterija u tlu ovisi i o količini eksudata koji biljka izluči, a može dosezati i 40% ukupne suhe tvari koju sintetizira. Glavni regulatori brojnosti rizobakterija su prvenstveno praživotinje. Pozitivnim djelovanjem praživotinja na rast biljaka smatralo se samo oslobađanje bakterijske biomase u obliku hranjivih tvari koje opet mogu koristiti same biljke, ali i drugi organizmi koji prebivaju u rizosferi. Međutim, boljim razumijevanjem bakterijske komunikacijske mreže s korijenjem biljaka koja pojačava izlučivanje eksudata za bakterije i time povećava njihovu brojnost te otkrićem selektivnog hranjenja ameba

različitim bakterijama koje nastanjuju rizosferu (ovisno o vrsti, veličini i koncentraciji bakterija) došlo se do rezultata koji pokazuju da je ta veza puno važnija. Prisutnost ameba u rizosferi koje reguliraju brojnost, biološku raznolikost, veličinu jedinki i kolonija bakterija, dolazi do stvaranja duljeg i razgranatijeg korijenja (Slika 9.) koje omogućuje biljkama bolju apsorpciju hranjivih tvari iz okoliša. U ovoj asocijaciji ameba ima konstantan i obilan izvor hrane (rizobakterije) koji se razvija zahvaljujući biljnom eksudatu, dok biljka profitira zbog prisustva selektiranih rizobakterija i kontroliranog broja zahvaljujući amebama. Brojnost populacija ameba kontroliraju oblići. U optimalno uspostavljenoj simbiozi maksimizira se kruženje hranjivih tvari u tlu i povećava biomasa biljke, a time i njena konkurentnost u odnosu na ostale biljke. (Bonkowski 2004)



Slika 9. Izgled korijenja riže (*Oryza sativa*) u prisutnosti amebe (*Acanthamoeba* sp.) (desno) i bez prisutnosti amebe (lijevo) Crtica predstavlja 1 cm. (Bonkowski 2004)

3. LITERATURA

Aderson O. R., Matsuoka A., 1992. Endocytoplazmic microalgae and bacteroids within the central capsule of the radiolarian *Dictyocoryne truncatum*. *Symbiosis* **12**, 237-247

Bonkowski M., 2004. Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist* **162**, 617–631

Cain, M.L., Bowman, W.D., Hacker, S.D., 2008. Mutualism and Commensalism. U: *Ecology*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 302-319

Caron D.A., Michaels A.F., Swanberg N.R., Howse F.A., 1995. Primary productivity by symbiont-bearing planktonic sarcodines (Acantaria, Radiolaria, Foraminifera) in surface waters near Bermuda, *Journal of Plankton Research* **17**, 103-129

Gast R.J., Beaudoin D.J., Caron D.A., 2003. Isolation of symbiotically expressed genes from the Dinoflagellate symbiont of the solitary radiolarian *Thalassicolla nucleata*. *The Biolgical Bulletin* **204**, 210-214

Gast R. J., Caron D. A., 2001. Photosymbiotic associations in planktonic foraminifera and radiolaria. *Hydrobiologia* **461**, 1-7

Görtz H-D. 2001. Intracellular bacteria in ciliates. Review article. *International Microbiology* **4**, 143-150

Fokin S. I., Schweikert M., 2003. Bacterial endocytobionts in the macronucleus of *Frontonia leucas* (Ciliophora, Peniculida). *European Journal of Protistology* **39**, 311–318

Fokin S. I., Schweikert M., Brümmer F., Görtz H-D., 2005. *Spirostomum spp*. (Ciliophora, Protista), a suitable system for endocytobiosis research. *Protoplasma* **225**, 93–102

Habdija I. i sur., 2003. Carstvo: Protista. U: *Protista-Protozoa i Metazoa-Invertebrata: Funkcionalna građa i praktikum*, Meridijani, Samobor, 61-66

Jeon K. W., Jeon M. S., 1976. Endosymbiosis in Amoebae: Recently Established Endosymbionts Have Become Required Cytoplasmic Components. *Journal of Cellular Physiology*, **89**, 337-344

Kouris A., Juniper S.K., Frebourg G., Gaill F., 2007. Protozoan–bacterial symbiosis in a deep-sea hydrothermal vent folliculinid ciliate (*Folliculinopsis* sp.) from the Juan de Fuca Ridge. *Marine Ecology* **28**, 63–71

Kovacevic G., Steiner J.M., Löffelhardt W., 2009. Cyanobacterial and Algal Symbioses, U: *Intracellular Niches of Microbes*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, 527-546

Sommaruga R., Sonntag B., 2009. Photobiological Aspects of the Mutualistic Association Between *Paramecium bursaria* and *Chlorella,* U: *Endosymbionts in Paramecium*. *Microbiology Monographs* **12**, 111-130

Swanberg N.R., 1979. The ecology of colonial radiolarians: their colony morphology, trophic interactions and associations, behavior, distribution, and the photosynthesis of their symbionts. Doktorska distertacija 23-25

Swanberg N.R., 1983. The trophic role of colonial Radiolaria in oligotrophic oceanic environments. *Limnology and Oceanography* **28**, 655-666

Takahashi O., Mayama S. Matsuoka A., 2003. Host-symbiont associations od polycystine Radiolaria: epifluorescence microscopic observation of living Radiolaria. *Marine Micropaleontology* **49**, 187-194

Takahashi T., Shirai Y., Kosaka T., Hosoya H., 2007. Arrest of Cytoplasmic Streaming Induces Algal Proliferation in Green Paramecia. *PloS ONE* **2**, 1-5

Vannini C., Petroni G., Schena A., Verni F., Rosati G., 2003. Well-established mutualistic associations between ciliates and prokaryotes might be more widespread and diversified than so far supposed, *European Journal of Protistology* **39**, 481–485

http://faculty.uca.edu/benw/biol4415/presentations/lect12.pdf, 2010. *Symbiosis in evolution*

http://www.morning-earth.org/, 2010.

http://newworldencyclopedia.org/entry/Symbiosis, 2010.

http://www.radiolaria.org, Kling, S. A., Boltovskoy. D., 2002. *What are radiolarians?*

http://rikenresearch.riken.jp/eng/frontline/6132, Ohkuma M., 2009. *Exploring symbiotic mechanisms through the genes of unculturable organisms*

http://www.ucmp.berkeley.edu/protista/radiolaria/radmm.html, 2010. *Radiolaria*

http://www.viveka.math.hr/~najla/, Kajtezović N., 2007. *Zrakaši (Radiolaria)*

4. SAŽETAK

Simbioza u praživotinja uglavnom predstavlja bliski mutualistički suživot između praživotinje i jednostaničnih simbionata (bakterija, cijanobakterija i/ili jednostaničnih alga) ili praživotinja i višestaničnog organizma (preživač, niži termit ili žohar koji se hrani drvetom, biljka). Dobrobit simbioze za praživotinjskog domaćina može biti: dodatna opskrba hranjivim tvarima od jednostanične alge ili cijanobakterije, zaštita od predatora i opskrba kisikom. Dobrobit simbioze za simbionte može biti: zaštita od predatora i opskrba hranjivim tvarima.

Jedna praživotinja može imati i nekoliko stotina jednostaničnih simbionata. Simbioza može biti obligatna ili fakultativna, endosimbioza ili ektosimbioza. Simbioza je uobičajena u trepetljikaša i sluzavaca. Najbolje istražena simbioza je ona između trepetljikaša roda *Paramecium* i jednostaničnih algi roda *Chlorella*.

Ovaj rad je kratka prezentacija uobičajenih primjera simbioze u praživotinja. Govori o nužnosti prilagodbe simbionta-domaćina i simbionta-gosta za uspostavljanje i održavanje simbioze. Važnost simbioze je u tome što omogućuje ovim organizmima zauzimanje novog mjesta u ekološkoj niši, koje je nedostupno drugim organizmima. Simbioza u praživotinja u prirodi je vrlo česta i raznolika, ali još uvijek nedovoljno istražena.

5. SUMMARY

Symbiosis in protozoa mostly represents a close mutualistic association between a protozoan and unicellular symbionts (bacteria, cyanobacteria or/and unicellular algae) or protozoans and a multicellular organism (ruminants, lower termites, wood-eating cockroaches, plants). Benefits for a protozoan host can be: extra food supply from intracellular algae or cyanobacteria, protection from predation and oxygen supply. Benefits for symbionts can be: protection from predation and nutrition supply.

One protozoan can bear a couple of hundreds unicellular symbionts. Symbiosis can be obligate or facultative, endosymbiosis or ectosymbiosis. It is very common in ciliate and sarcodine protozoans. The best studied symbioses are those between a ciliate protozoan of genus *Paramecium* and symbiotic unicellular algae of genus *Chlorella*.

This work presents a short overview of the most common examples of symbiosis in protozoa. It shows the necessity of adaptations of symbionts and hosts for formation and maintainance of the symbiosis. Symbiosis is very important because it allows these organisms to take new place in ecological niche which is out of reach to other organisms. Symbiosis in protozoa in nature is very common and shows a great diversity, but is still not adequately investigated.