Miksotrofija algi

Janović, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:217:148253

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







BIOLOŠKI ODSJEK
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MIKSOTROFIJA ALGI

MIXOTROPHY IN ALGAE

SEMINARSKI RAD

Ana Janović
Preddiplomski studij Molekularne biologije
Mentor: izv.prof.dr.sc. Marija Gligora Udovič

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD *3*

2. PRIMJERI MIKSOTROFIJE U RAZLIČITIH SKUPINA ALGI *5*

2.1. Cijanobakterije **5**

2.2. Ochrophyta, Chrysophyceae **9**

2.3. Haptophyta **12**

2.4. Dinophyta **14**

3. ZAKLJUČAK *16*

4. LITERATURA *17*

5. SAŽETAK *21*

6. SUMMARY *21*

1. UVOD

Alge su polifiletska skupina organizama koje spadaju u tri od pet eukariotskih supergrupa (Adl i sur., 2015). U alge se ubrajaju i cijanobakterije, prokariotski organizmi sa sposobnošću procesa aerobne fotosinteze na tilakoidnim membranama i fiksacije dušika. Alge nastanjuju slatkovodne i morske sustave te su pozornost istraživača zaslužile zahvaljujući značajnom doprinosu u proizvodnji kisika i ukupnoj biomasi koja sudjeluje u kruženju ugljika na Zemlji. Raznolikost vrsta se procjenjuje na 30 000 do 1 000 000 vrsta. Raznolikost oblika algi očituje se u veličini, od jednostaničnih mikroskopskih organizama do makroskopskih algi velikih i nekoliko desetaka metara, potom u staničnoj građi i posjedovanju plastida, tipu staničnih pigmenata, prisutnosti bičeva, načinu razmnožavanja, građi stanične stijenke, tipu pričuvnih tvari, itd. Sve ove karakteristike služile su u razrješavanju filogenetskih odnosa među skupinama (Tilden, 1933) do uvođenja molekularnih metoda istraživanja filogenije algi. Velike genetičke i morfološke razlike među skupinama posljedica su višestrukih endosimbiotskih događaja i horizontalnog transfera gena potpomognutog virusima tijekom evolucije. Sposobnost fotosinteze – autotrofnog načina ishrane, uz sintezu organskih spojeva iz anorganskog ugljika glavno je obilježje algi, kao i mogućnost primanja hranjivih soli iz okoliša (Guerrero i sur., 1981, Currie i Kalff, 1984). Za razliku od biljaka, alge ne posjeduju visoko organizirano i specijalizirano tkivo. Razred Charophyceae koji je filogenetički srodan kopnenim biljkama izdvaja se kao najodvedeniji među algama (Delwiche i Cooper, 2015).

Osobitost procesa fotosinteze u usporedbi s biljkama je prisustvo specifičnih pigmenata poput fikocijanina, fikoeritrina, fukoksantina, peridinina, klorofila *c*, *d* i *e*. U fotosintezi cijanobakterija, crvenih algi i skupine Glaucophyta sudjeluju fikobilisomi kao poseban vanmembranski proteinski kompleks zaslužan za apsorpciju i prijenos svjetlosne energije, dok su kod eukariota prisutni pirenoidi, a kod prokariota karboksisomi, stanična struktura s enzimima za aktivni transport HCO_3^- iona (Griffiths, 1980).

Organizmi se mogu razlikovati i po načinu dobivanja energije za rast i razvoj. Prokariotski organizmi energiju mogu dobivati kemoautotrofijom, kemoheterotrofijom i fototrofijom, dok je kod algi uz fototrofiju najprisutnija miksotrofija. Miksotrofija označava sposobnost prilagodbe organizma na autotrofni i heterotrofni način ishrane, ovisno o okolišnim i fiziološkim uvjetima. Autotrofni organizmi koriste energiju u obliku fotona ili kemijske energije za fiksaciju anorganskog ugljika te im nedostaju mehanizmi unosa i razgradnje većih molekula. Heterotrofi, s druge strane, koriste otopljene spojeve organskog ugljika unesene iz okoline putem membranskih transportera procesom osmotrofije ili pak fagocitiraju čitave

stanice. Miksotrofi imaju fagotrofni i fototrofni način ishrane te se mogu grupirati na primarno fototrofne organizme s mogućnošću fagotrofije ili primarno fagotrofne organizme s mogućnošću fototrofije (Stoecker, 1998). Miksotrofija je u algi raširena unutar raznih skupina: prokariotske cijanobakterije i Chlorophyta evolucijski razvijenih primarnom endosimbiozom, Chrysophyta, Haptophyta i Dinophyta nastalim sekundarnom ili tercijarnom endosimbiozom. Osim već spomenutih mehanizama miksotrofije, postoje i slučajevi pojedinih heterotrofnih protista u obligatnoj simbiozi s fototrofnim mikroalgama (Decelle i sur., 2015) te fagotrofne mikroalge koje zadržavaju kloroplast probavljenog fototrofa (Schoener i McManus, 2012, Skovgaard, 1998).

2. PRIMJERI MIKSOTROFIJE U RAZLIČITIH SKUPINA ALGI

2.1. Cijanobakterije

Rezultati prvih istraživanja mjerenja rasta u tami na cijanobakterijama, s dodatkom glukoze, pokazali su kako mnoge vrste mogu imati autotrofni, ali i miksotrofni i heterotrofni način ishrane (Pelroy i sur., 1972). Analize cjelokupnog genoma provedene na dva najraširenija roda cijanobakterija *Synechococcus* (Palenik i sur., 2003) i *Prochlorococcus* (Rocap i sur., 2003) pokazale su njihov potencijal za heterotrofni način ishrane.

Genomska analiza na oligotrofnom soju roda *Synechococcus* dokazala je prisustvo dvaju ABC transportera za ureu te jedan za fosfate. Analizom su utvrđeni i transporteri za aminokiseline (Ala/Gly:Na simporter), oligopeptide, cijanat te enzim cijanazu, čime je, suprotno prvotnom mišljenju da su cijanobakterije isključivo diazotrofi, potvrđeno kako *Synechococcus* može koristiti cijanat kao izvor dušika. Nadalje, pronađeni su geni za transport fosfonata (spojeva s C-P vezom), kao i četiri gena za alkalne fosfataze koje defosforiliraju organske spojeve. Prisutni su i geni za transportere kvartarnih amonijevih spojeva. Navedeni rezultati, zajedno s rezultatima istraživanja unosa aminokiselina u kulturi (Chen i sur., 1991) te unosa glukoze (Duhamel i sur., 2018) upućuju na sposobnost provođenja miksotrofne ishrane.

Genomska analiza dvaju sojeva roda *Prochlorococcus*, jednog prilagođenog visokoj razini svjetlosti (VRS) te drugog niskoj razini svjetlosti (NRS), pokazala je veliku razliku u veličini genoma (1,716 gena kod VRS i 2,275 gena kod NRS). NRS soj sadrži veći broj transporterskih gena te ujedno i veći broj transportera za šećere od soja VRS. Također, NRS ne posjeduje klaster gena uključen u transport nitrata/nitrita kao ni nitrat reduktazu, dok VRS soj ne posjeduje nitrit reduktazu, što se poklapa s rezultatima istraživanja rasta različitih sojeva u kulturi (Moore i sur., 2002). Nadalje, oba soja sadrže transportere za ureu, oligopeptide i cijanat s tim da NRS soj ne sadrži gene za razgradnju cijanata, a VRS soj ne sadrži transporter za aminokiseline. Kod soja VRS prisutan je enzim sličan alkalnoj fosfatazi. Nijedan od sojeva ne sadrži sve gene potrebne za potpuno heterotrofno preživljavanje. U odnosu na ukupni bakterijski plankton izoliran iz uzoraka vode oligotrofnih slatkovodnih sustava, kod vrsta roda *Prochlorococcus* otkrivena je vrlo visoka razina akumulacije radioaktivno obilježene aminokiseline metionin (Zubkov i sur., 2003). Također, proučavane su promjene ekspresije gena tijekom unosa radioaktivno obilježene glukoze u stanice u koncentracijama koje odgovaraju oligotrofnim morima u kojima vrsta prebiva (Gómez-Baena i sur., 2008). Geni s uočenom povećanom ekspresijom uključeni su u metabolizam glukoze unutar ciklusa pentoza

fosfata (glukoza-6-fosfat dehidrogenaza, 6-fosfoglukonat dehidrogenaza, laktat dehidrogenaza). Unatoč nedostatku gena 6-fosfofruktokinaze uključenog u početni korak glikolize te nedostatku gena uključenih u Krebsov ciklus (Pearce i sur., 1969), *Prochlorococcus* može koristiti glukozu za dobivanje energije pomoću ciklusa pentoza fosfata (CPP) uz proizvodnju gliceraldehid-3-fosfata. Istraživanja na rodovima *Prochlorococcus* i *Synechococcus* pokazala su kako je unos glukoze veći u stanicama inkubiranim na svjetlu nego kod onih u tami (Duhamel, 2018). Također, unos glukoze po stanici vrste roda *Prochlorococcus* bio je oko dva puta veći nego u stanicama vrsta roda *Synechococcus* čije su stanicu veće. Uloga jednog od gena (*melB*) sa zabilježenom većom ekspresijom kasnije je proučavana kod soja *Synechococcus elongatus* koji inače nema sposobnost unosa glukoze (Muñoz-Marín i sur., 2013). Yelton i sur. (2016) dokazali su kako molekula *melB* ima ulogu glukoznog transportera s najvećom specifičnošću za glukozu u odnosu na ostale šećere. Također, proučavanjem dinamike unosa pri različitim koncentracijama glukoze uočena je dvofazna priroda transportera, gdje transporter ima drugačiji afinitet za supstrat (K_s) ovisno o koncentraciji supstrata. Takav transporter omogućava brži unos glukoze pri većim i pri manjim koncentracijama glukoze maksimizirajući unos pri različitim koncentracijama glukoze u moru. Potencijal za unos glukoze mogao bi postojati kod mnogih morskih cijanobakterija s obzirom da su homolozi gena *melB* raširenи kod raznih predstavnika cijanobakterija. Kasnije analize pokazale su da se *melB* nalazi u klasteru s genom za enzim koji razgrađuje glikogen (Yelton i sur., 2016).

Analizom genomskih podataka vrsta roda *Prochlorococcus* i *Synechococcus* prikupljenih s raznih lokacija diljem svijeta pronađeni su geni za transport i razgradnju šećera, aminokiselina i peptida kod svih uzoraka (Yelton, 2016), što naslućuje da je miksotrofija globalno raširena kod ova dva ekološki važna roda. Sojevi prilagođeni visokim razinama svjetlosti (poput roda *Prochlorococcus*), kao i sojevi roda *Synechococcus* iz otvorenog oceana, imaju manji broj gena za transportere. Sojevi roda *Synechococcus* u pravilu sadrže veći broj gena za transportere od sojeva roda *Prochlorococcus*.

Osim mogućnosti unosa i metaboličke razgradnje spojeva, u cijanobakterija koje stvaraju mikrobne zajednice (eng. *microbial mats*) dokazana je i mogućnost izvanstanične razgradnje (Stuart i sur., 2016). Takve se zajednice sastoje se od izvanstaničnog matriksa izgrađenog od polimera sličnih celulozi i škrobu. Analizom egzoproteoma nađeni su enzimi uključeni u razgradnju ugljikohidrata, nukleinskih kiselina, aminokiselina i peptida, od kojih su mnogi identificirani kao cijanobakterijski. Istraživanjem mikrobnih zajednica u kulturi potvrđena je mogućnost razgradnje peptida i ugljikohidrata te ugradnje organskog ugljika.

Osim već spomenutog CPP-a i glikolize, cijanobakterije za razgradnju glukoze koriste i Entner–Doudoroff (ED) put prisutan kod nekih prokariotskih i biljnih skupina, uz manji prinos ATP-a (1 molekula ATP-a po molekuli glukoze). Manji energetski prinos ED puta u odnosu na CPP nadomješten je manjom potrebom za enzimima u odnosu na glikolizu (Flamholz i sur., 2013). Praćenjem rasta stanica u autotrofnim i miksotrofnim uvjetima kod sojeva s mutacijom na enzimima uključenima u jednom od navedena tri ciklusa razgradnje glukoze utvrđena je najveća ovisnost o ED putu u miksotrofnim, kao i autotrofnim uvjetima (Chen i sur., 2016). Nadalje, autori navode da je prednost ED puta što za razliku od CPP i glikolize ne koristi iste međuprodukte kao i Calvinov ciklus, odnosno na taj način ciklusi nisu u kompeticiji za enzimske supstrate čime se objašnjava veća aktivnost ED puta u miksotrofnim uvjetima.

Rod *Prochlorococcus* kao najbrojnija skupina cijanobakterija dugo je smatran vrlo važnim primarnim proizvođačem u morskim ekosustavima, a s novim saznanjima o postojanju gena za unos i razgradnju molekula, kao i pokusima u kulturi otkrivaju se nove uloge roda kao potrošača. Uz mogućnost unosa dušičnih spojeva, koji su čest limitirajući čimbenik u oligotrofnim vodenom sustavima dokazan je i unos šećera.

Najnovije istraživanje na rodu *Prochlorococcus* proučavalo je interakciju s prokariotom roda *Alteromonas* koji pomaže u preživljavanju *Prochlorococcus* u tami dajući mu biosintetske supstrate ili energiju (Biller i sur., 2018). Prisutnost roda *Alteromonas* u kulturi povećava brojnost stanica cijanobakterije. Cijanobakterijske stanice u kulturi bez prisutnosti stanica roda *Alteromonas* u tami pokazuju veću neusuglašenost u transkripciji, što znači da različite stanice imaju vrlo različite razine transkripcije. Nakon izlaganja uvjetima tame, izmjerena je veća promjena ekspresije kod aksenične kulture u odnosu na kontrolu u svjetlu. Autori pretpostavljaju zbog manje limitiranosti nekog resursa stanica u kokulturi. Aksenična kultura, u odnosu na kokulturu, pokazala je smanjenu ekspresiju za anaboličke biosintetske puteve poput onih za sintezu aminokiselina i purina/pirimidina, dok se povećala enzima kataboličkih puteva te fotosinteze (Rubisco). Također, aksenična kultura pokazuje povećanu ekspresiju transportera za fosfate i željezo. Iz ovih transkriptomskih podataka autori pretpostavljaju da postoji neka interakcija između ove dvije vrste koje podržava preživljavanje roda *Prochlorococcus* u tami.

Kod cijanobakterije iz roda *Cyanothece* uočena je mogućnosti miksotrofne, ali i potpune heterotrofne ishrane u tami (Reddy i sur., 1993). S obzirom da se radi o nekolonijalnoj vrsti sa sposobnošću fiksacije dušike kao i fotosintetskog stvaranja kisika provedena su istraživanja i o utjecaju asimilacije organskog ugljika na taj proces. Utvrđeno je da stanice u uvjetima svjetla

mogu koristiti glicerol kao jedini izvor ugljika, ali ne i glukozu te piruvat te je prisutnost glicerola povećalo rast stanica (Feng i sur., 2010). Uz dovoljnu količinu nitrata, stanice su mogle rasti potpuno heterotrofno koristeći glicerol, čak i uz konstantno svjetlo, što je pokazano mjerenjem udjela radioaktivnog obilježenog glicerola u aminokiselinama. Također je i povećana sposobnost fiksacije dušika u prisutnosti glicerola, pretpostavlja se zbog manje potrošnje energije na fiksaciju CO_2. S druge strane, piruvat iskorištavaju samo za sintezu nekoliko aminokiselina. Prisutnost organskog ugljika nije smanjila maksimalni kvantni prinos fotosustava II, parametra koji procjenjuje njegovu efikasnost.

S obzirom da se radi o rodu s velikim fiziološkim razlikama između dnevnih i noćnih uvjeta istraživane su razlike u transkriptomici u miksotrofnim i fotoautotrofnim stanjima. Naime, fiksacija dušika pomoću nitrogenaze osjetljive na prisutnost kisika vremenski je odvojena od fotosinteze, tako da se fiksacija odvija noću, što se očituje u razlici u aktivnosti 10% cjelokupnog genoma (Toepel i sur., 2008). Miksotrofne *Cyanothece* pokazuju isto osciliranje između fiksacije dušika i fotosinteze kao i kod fotoautotrofije (Krishnakumar i sur. 2015). Uočeno je dulje trajanje respiratorne faze u usporedbi s autotrofijom očito kao rezultat veće dostupnosti ugljika iz glicerola. Nadalje, geni uključeni u fiksaciju dušika (proteini kompleksa nitrogenaze), skladištenje dušikovih spojeva (cijanoficin) i proizvodnju vodika kod miksotrofa pokazuju najveću ekspresiju oko polovice dnevnog ciklusa, dok je kod fotoautotrofa maksimum krajem dnevnog ciklusa. Kao razlog vrhunca ekspresije gena za hidrogenazu i NADH dehidrogenazu oko polovice dnevnog ciklusa navodi se regulacija velike proizvodnje reduktivnih spojeva uslijed istovremene fotosinteze i metabolizma glicerola. Također, uočeno je dulje vrijeme ekspresije proteina karboksisomskog kompleksa. Ranija saznanja o većoj stopi diobe tijekom miksotrofije (Gaudana i sur. 2013) potvrđena su nadekspresijom *fts* gena uključenih u diobu. Očekivano je utvrđena i veća ekspresija gena uključenih u sintezu aminokiselina, masnih kiselina, stanične stjenke purina i pirimidina - procesa uključenih u povećanje ukupne stanične biomase kao rezultat veće količine dostupnog ugljika na kraju rezultirajući većom stopom diobe.

Zanimljivo je, na kraju, da su pojedine poglavito miksotrofne vrste cijanobakterija sposobne razgraditi određene organske toksične spojeve poput DDT-a, metil-naftalena, heksaklorocikloheksana (Subashchandrabose, Ramakrishnan, Megharaj, Venkateswarlu, i Naidu, 2013) koji predstavljaju opasnost za ekosustav. Takvo što, pretpostavljam, zahtjeva veliku raznovrsnost u tipovima transportera koje posjeduju. Primjerice, *Oscillatoria quadripunctulata* apsorbirala je razne fenolne, sulfidne i aromatske spojeve uslijed izlijevanja

nafte i na taj način u 96 sati smanjila koncentraciju ukupne topljive soli za 40% (Joseph i Joseph, 2001).

2.2. Ochrophyta, Chrysophyceae

Prva istraživanja miksotrofije Chrysophyceae pokazala su značaj miksotrofije kod roda *Dynobrion* koji unatoč posjedovanju kloroplasta oko 50% ugljika dobiva bakterivorijom (Bird i Kallf, 1986). Ispitivanja na *Poterioochromonas malhamensis* utvrdila su da je fagotrofija bakterija glavni način ishrane ove vrste (Sanders, Porter, i Caron, 1990) gdje fotosinteza doprinosi sa samo oko 7% ugljika kad su prisutne bakterije. Brojnost bakterija pokazana je kao glavni parametar fagotrofije; mnogo bitniji od intenziteta svjetla te je uočeno smanjenje količine klorofila nakon dodavanja bakterija u kulturu. *Poterioochromonas* je sposoban unijeti bakterije vrlo brzo nakon njihovog dodavanja u kulturu, dok prelazak na fototrofiju (praćen povećanjem koncentracije klorofila) zahtjeva dulje vrijeme. Nadalje, stope rasta su mnogo više kod miksotrofnih nego kod autotrofnih uvjeta iz čega se zaključuje da je vrsta primarni fagotrof koji prelazi na fototrofiju u uvjetima nedostatka bakterijskog plijena. Daljnja proučavanja prehrambenih strategija Chrysophytae pokazala su da je *Dynobrion* miksotrof s obligatnom fototrofijom, dok *P. malhamensis* proliferira i u tami (Rottberger, Gruber, Boenigk, i Kroth, 2013). Također, vrlo niska razina potrebne količine bakterija za rast roda *Dynobrion* mogla bi biti zbog potrebe za faktorima rasta proizvedenim od strane bakterija (Caron i sur. 1993).

Rod *Ochromonas* najproučavaniji je miksotrof razreda Chrysophyceae. Pripadnici roda Ochromonas su jednostanični, s dva nejednaka biča te jednim do dva kloroplasta. Mogu posjedovati pirenoid i stigmu. Kod roda Ochromonas veća je uloga fagotrofije u ishrani te fotosintezu koristi tek u uvjetima niske koncentracije plijena (Rothhaupt, 1996 a) što se vidi iz toga da stopa unosa bakterija ne ovisi o dostupnosti svjetla. Unatoč tomu, smanjena proliferacija moguća je i kod fototrofnih uvjeta uz nisku koncentraciju bakterija. Uočene su i promjene u veličini kloroplasta i broju lamela između stanica inkubiranim u mraku s dostupnim plijenom te stanica u uvjetima svjetla gdje je kloroplast manje veličine te s manjim brojem lamela kod stanica u mraku (Boraas, Estep, Johnson, i Sieburth, 1988). Mnogi autori postavili su pitanje isplativosti i energetske cijene miksotrofije. Bazalni metabolizam roda *Ochromonas* je veći nego kod obligatnih fagotrofa vidljivo iz toga što su potrebne više koncentracije bakterija za postizanje maksimalne stope rasta (Rothhaupt, 1996 a). Energija potrebna za pokretanja biča roda *Ochromonas* iznosi tek oko 1% ukupne potrošnje energije u stanici u fazi rasta (Fenchel, 1982).

Praćenjem koncentracije topljivih fosfata izmjereno je ispuštanje fosfata kad je dostupan plijen, odnosno njegova apsorpcija u uvjetima niske brojnosti bakterija što možda može pozitivno utjecati na rast bakterijskog plijena. Nadalje, uspješnost miksotrofije kao prehrambene strategije u kompeticiji sa strogom fagotrofijom i fototrofijom proučavana je praćenjem brojnosti roda *Ochromonas* u mješovitoj kulturi (Rothhaupt 1996 b). U tamnoj kulturi roda *Ochromonas*, bakterija i obligatnog fagotrofa potonji je očekivano postizao najveću biomasu. Uz svjetlost je, pak, nakon nekog vremena *Ochromonas* potpuno nadmašio fagotrofa. Druga izvedba eksperimenta uz održavanje konstantne koncentracije bakterija dokazala je superiornost fagotrofa u uvjetima visoke koncentracije bakterija i niskog svjetla. U uvjetima visoke koncentracije bakterija i jakog svjetla dvije vrste su koegzistirale, dok je u tami fagotrof potpuno prevladao. Međutim, ukupna postignuta biomasa fagotrofa u tami niža je od biomase roda *Ochromonas* u miksotrofnim uvjetima zbog mogućnosti miksotrofa da iskoristiti dodatnu energiju iz svjetlosti. *Ochromonas* u kulturi sa strogim fototrofom i bakterijama ne djeluje pozitivno na rast fototrofa – jedući bakterije kao konkurenciju za hranjive soli, vjerojatno jer i on sam konzumira dio hranjivih soli. Svi ovi podaci sugeriraju da u sustavima s vrstama s različitim prehrambenim strategijama ulogu igraju mnogobrojni parametri od jakosti svjetla, koncentracije plijena (u ovom slučaju bakterija) i hranjivih soli te svakako razina ovisnosti o pojedinom načinu ishrane.

Sljedeći predmet interesa kod roda *Ochromonas* bila je razlika u lipidnom sastavu ovisno o načinu ishrane (Boëchat, Weithoff, Krüger, Gücker, i Adrian, 2007). Miksotrofi i heterotrofi pokazuju niži udio višestruko nezasićenih masnih kiselina (VNMK) nego autotrofi. VNMK imaju uloge u rastu i propusnosti membrane. Kao razlog manjeg udjela VNMK navodi se veći energetski trošak proizvodnje u obliku više molekula ATP-a i potrebnih enzima za formiranje dvostruke ugljične veze. Miksotrofi sadrže i veći udio zasićenih masnih kiselina. Heterotrofi ne sadrže VNMK duže od 18 C atoma i imaju niži ukupni sadržaj masnih kiselina. Pojedine ω3 masne kiseline bile su zastupljenije kod miksotrofa, dok je sastav sterola drukčiji nego kod autotrofa i heterotrofa, možda kao posljedica energetskog troška posjedovanja dva seta za dobivanje energije.

Nadalje, potvrda glavne uloge fagotrofije kod ovog roda dobivena je praćenjem inkorporacije radioaktivno obilježenog dušika i ugljika u anorganskom ali i u organskom obliku (unutar mrtvih bakterija) gdje je preko 90% ugljika dobiveno fagotrofijom (Terrado i sur. *2017*). Razlog može biti, između ostalog, i nedostatak kompleksa za koncentraciju ugljika (Diaz i Maberly, 2009).

Fotofiziološka proučavanja fotosinteze i prisutnosti fotosintetskih proteina pokušala su utvrditi provodi li *O. danica* fotoheterotrofni način ishrane (Wilken, Schuurmans, i Matthijs, 2014), zabilježen kod nekih cijanobakterija (Feng i sur. 2010). Naime, proizvodnja fotosintetske mašinerije zahtjeva oko 50% ukupne dostupne energije i hranjivih soli u fotoautotrofima (Falkowski i Raven, 2007). Pretpostavka je da linearni transport elektrona nije potreban za stvaranje NADPH u prisustvu dovoljne količine organskog ugljika te da fotokemijska energija tada odlazi na stvaranje ATP-a u cikličkom transportu elektrona oko fotosustava I (PS I). Pomoću 77K fluorescencije utvrđeno je da antenski kompleks i reakcijski kompleks nisu u neposrednoj interakciji kod miksotrofa, za razliku od autotrofa. U skladu s pretpostavkom, veći je udio PS I nad PS II kod miksotrofa te je također posebice smanjena količina Rubisco enzima kod miksotrofa što možda upućuje na fotoheterotrofiju.

Iscrpno istraživanje transkriptomske razlike među tri prehrambene strategije roda Ochromonas bila su fokusirana na identifikaciju diferencijalno eksprimiranih gena ovisno o dostupnosti svjetla i/ili mrtvih bakterija (Lie i sur. 2017). Čak 42% cijelog genoma ostalo je neidentificirano. Uspoređujući diferencijalnu ekspresiju između svjetlosnih i tamnih uvjeta, oba uz prisustvo bakterija utvrđena je razlika ekspresije 8% svih gena. S druge strane, razlika ekspresije između fototrofno i miksotrofno uzgajanih kultura vidljiva je kod čak 59% gena. Čak 16 od 26 fotosintetskih gena bilo je nadeksprimirano kod miksotrofa u odnosu na heterotrofe koji su imali nadeksprimiran jedino gen za feredoksin. Razlika je uočena u genima za sintezu klorofila i antenske komplekse što očito rezultira uočenom smanjenom količinom klorofila kod heterotrofa. Usporedba fototrofije i miksotrofije pokazala je razliku u ekspresiji 7 gena za svaki način ishrane. Iznenađujuća je povećana razina ekspresije nekih fagotrofnih gena (za lizozim i glikozid hidrolazu) kod autotrofa u usporedbi s miksotrofom, možda kao rezultat recikliranja unutarstaničnih resursa zbog autofagije. Nadalje, očekivano je uočena veća ekspresija glikolitičkih gena (fosfokinaza, glukokinaza) u prisustvu bakterijskog plijena. Nađena je i veća ekspresija enzima za proizvodnju oksogluterata unutar Krebsovog ciklusa, vjerojatno zbog njegove uloge kao transportera dušika unesenog fagotrofijom. Također, enzim glutamat dehidrogenaza koji stvara amonijak je nadeksprimiran u prisustvu bakterija, čime se višak amonijaka izbacuje van. Suprotno tome, transporter aminometiltransferaza pokazuje veću ekspresiju u odsustvu plijena kada alga mora unositi anorganski dušik iz okoline te je i to gen s najvećom razlikom u ekspresiji između fototrofnih i miksotrofnih uvjeta. Identificiran je i gen za protein sličan aureokromu (transkripcijski faktor s receptorom za plavu svjetlost) čija je ekspresija mnogo niža kod miksotrofa u odnosu na ostala dva tipa ishrane.

Starija istraživanja stope rasta i koncentracije klorofila, kao i novija koja pokazuju relativno malu razliku ekspresije gena između svjetlosnih i tamnih uvjeta, pokazuju da je fagotrofija primarni način ishrane ove alge, dok je autotrofija način preživljavanja tijekom dužih perioda gladovanja.

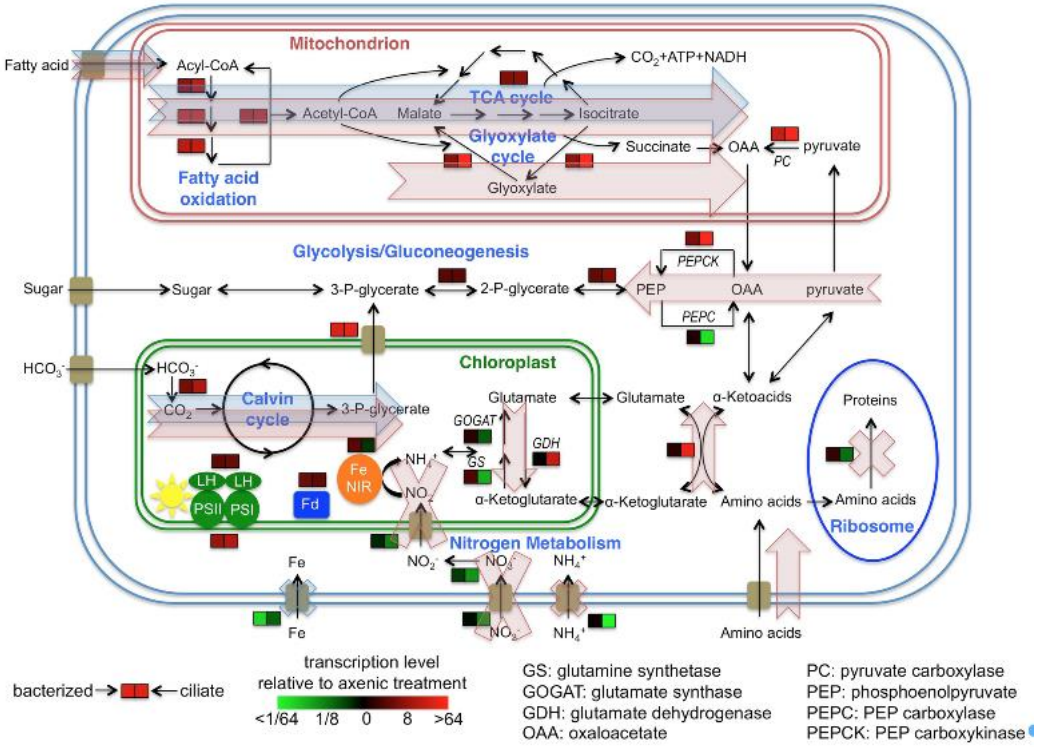
2.3. Haptophyta

Vrsta *Prymnesium parvum* poznata je zbog stvaranja toksičnih cvjetanja mora (Moestrup, 1994). Toksin primnezin koji proizvode smrtonosan je za velik broj organizama (Tillmann, 2003). Toksičnost vrste ovisi o staničnom statusu hranjivih soli (Legrand, 2001). U nedostatku fosfata ili dušika vrsta počinje pokazivati veću toksičnost i fagotrofiju. (Johansson i Granéli, 1999). Vrsta može živjeti u fototrofnim uvjetima uz asimilaciju anorganskih spojeva (Baker 2007), ali i apsorbirati otopljeni organski ugljik (Tillman, 2003). Veća količina dušika i fosfora, ali ne i ugljika kod heterotrofno uzgajanih vrsta idu u prilog tvrdnji da rod *Prymnesium* koristi fotosintezu za rast i sintezu tvari, dok fagotrofiju koristi u uvjetima manjka hranjivih soli.

Za razliku od vrste *Prymnesium parvum* koja koristi miksotrofiju za rast, druga vrsta *Isochrysis galbana* provodi fagotrofiju samo u uvjetima nedostatka vitamina i hranidbenih soli te joj miksotrofna ishrana ne služi za rast nego samo za preživljavanje (Anderson, Charvet, i Hansen, 2018).

Također, proučavane su razlike u ekspresiji kod vrste *P. parvum* u ovisnosti o prisutnosti, ali i vrsti plijena koju ima na raspolaganju – bakterije ili cilijate (Liu, 2015). Genom sadrži preko 43,000 gena. Ponovo su nađene veće ekspresije gena u tretmanima s plijenom za enzime oksidacije masnih kiselina, kao i enzime Krebsovog i glioksilatnog ciklusa gdje se jedan dio Acetil-CoA katabolički koristi za dobivanje ATP-a, a drugi za anabolički proces dobivanja sukcinata. Nadalje, kultura s cilijatima pokazuje mnogo veću ekspresiju gena glioksilatnog ciklusa, PEP karboksikinaze i malat sintaze te izocitrat lijaze, nego bakterijska kultura iz čega se zaključuje da cilijati jače aktiviraju sintezu masnih kiselina. Dobivene su mnogo niže razine gena za transportere za unos amonijaka te enzime glutamin sintazu i glutamat oksoketoglutarat aminotransferazu koja stvara glutamat iz ketoglutarata. Iz toga se vidi da alga u prisustvu plijena, poglavito cilijata, ima aktivniji katabolizam aminokiselina. Tretman bakterijama je uzrokovao manju ekspresiju enzima za unos željeza. Geni za proteine uključene u fotosintezu poput PS I, PS II, klorofil-vezujućih proteina, feredoksina, ugljične anhidraze su svi imali veću

ekspresiju, što je možda rezultat „viška“ energije koju nije potrebno trošiti za unos dušika i željeza kad je dostupan plijen.



Slika 1 – Različite transkripcije glavnih metaboličkih proteina u stanici *Prymnesium parvum* kod tri različita uvjeta uzgajanja (bez plijena, s bakterijama i s cilijatima). Preuzeto iz Liu i sur. 2017.

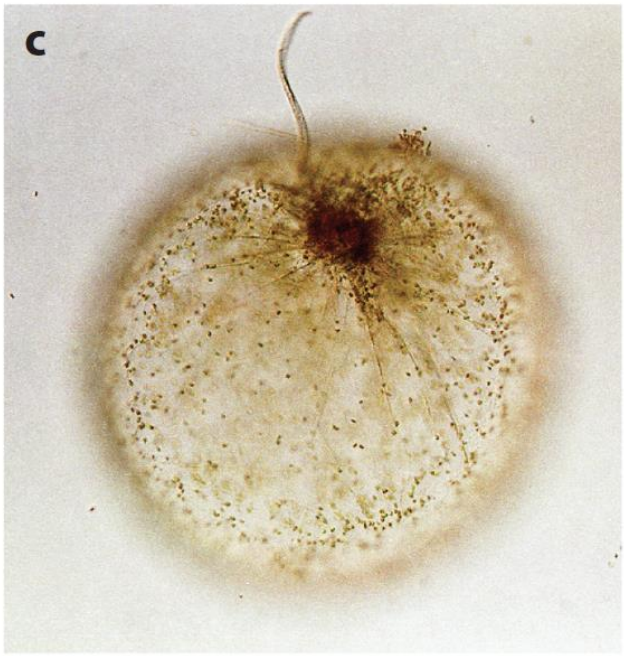
2.4. Dinophyta

Dinophyta su fototrofni ili češće miksotrofni organizmi. Neki dinoflagelati su primarni fototrofi za koje je dokazana fagotrofija ili su uočene hranidbene vakuole. Pojedine vrste, koje sadrže i kloroplast su ujedno i paraziti riba i Copepoda (Stoecker, 1998). Stoecker (2017) je podijelio Dinophyta sa simbiontima na temelju vrste simbioze, tako da postoje vrste s ektosimbiontima – cijanobakterijama smještenim u području cinguluma (Craveiro, Calado, Daugbjerg, Hansen, i Moestrup, 2011) te vrste s endosimbiontima, kao što je *Noctiluca scintillans* koja je domaćin stotina stanica *Protoeuglena noctilucae*. Na taj način *N. scintillans* može fiksirati ugljik fotosintezom što se vidi iz više stope rasta stanica s endosimbiontima (Hansen, Miranda, i Azanza, 2004), ali i istovremeno zadržava sposobnost fagotrofije (Saito, Furuya, i Lirdwitayaprasit, 2006). Očekivano postoje i razlike u kompatibilnosti domaćina i simbionta koja se očituju u različitim stopama rasta stanice i vremenu preživljavanja endosimbionta unutar stanica. Čak i unutar vrste *N. scintillans* postoje razlike u mogućnostima zadržavanje endosimbionta kroz duže razdoblje. Kod nekih sojeva, u uvjetima niske koncentracije hranjivih soli, endosimbiont će biti probavljen u stanici *N. scintillans* nakon nekoliko dana (Hansen, 2004). Vrsta *N. scintillans* je odgovorna za stvaranje cvjetanja u Arapskom moru te se pretpostavlja da upravo sposobnost endosimbioze omogućava algi izrazito brzo širenje što je praćeno povećanjem koncentracije klorofila kroz vrijeme (Madhu, Jyothibabu, Maheswaran, Jayaraj, i Achuthankutty, 2012).

Proučavanjem vrste *Dinophysis caudata* ustanovljeno je da se radi o obligatnom miksotrofu kojeg nije bilo moguće uzgojiti u kulturi bez svijetlosti i dodavanja cilijata te je dokazano da cilijatni plastidi (također uneseni kleptoplastijom) nemaju mogućnost dijeljenja unutar stanice (Minnhagen i sur. 2011). Kod vrste *Dinophysis acumulata* je, s druge strane, utvrđeno da sadrži trajne plastide. Naime, temeljem broja membrana plastida, ultrastrukture pirenoida i tilakoidnih membrana proučavanih elektronskom mikrosokopijom nađena je velika razlika u odnosu na organizam kojim se hrani cilijat (Garcia-Cuetos, Moestrup, Hansen, i Daugbjerg, 2010). Kod iste vrste utvrđeno je i postojanje proteina kodiranih jezgrinim genomom koji služe u stabilizaciji fotosistema i transportu metabolita koji mogu produžiti postojanje plastida zaštitom od stresa. Za te gene utvrđeno je da su stečeni horizontalnim transferom gena (Wisecaver i Hackett, 2010).

Analizom plastidnih sekvenci velike podjedinica Rubisca kod više stanica vrste *Dinophysis mitra* nađena je prisutnost plastida više različitih vrsta algi (haptofita, prazinofita, i drugih), konkretno preko 100 različitih plastidnih sekvenci unutar 14 stanica (Nishitani i sur. 2014).

Time su pokazali da *D. mitra* može fagocitirati razne skupine cilijata i da podržava simbiozu s plastidima različitih vrsta algi.



Slika 2 – Endosimbiont *Protoeuglena noctilucae* unutar stanice *Noctiluca scintillans*. Preuzeto iz Stoecker,2018.

3. ZAKLJUČAK

Ovim radom prezentirana je po skupinama velika raznolikost algi u oblicima miksotrofije koju provode. Ponekad čak i srodne vrste imaju vrlo različite načine ishrane. Predstavljene su razlike među tipovima ishrane na razini transkripcije gena, poglavito za puteve razgradnje i sinteze šećera, aminokiselina i lipida te je također uočen drukčiji sastav membrana i razina pigmenata. Nadalje su izražene razlike i u ekspresiji gena uključenih u transport tvari u stanicu kao i fotosintetskih proteina. Očito je da miksotrofija zahtjeva veliku metaboličku plastičnost stanica, a time i genetsku raznovrsnost za odvijanje raznih procesa.

Također, spomenute su i najčešće metode kojim su se znanstvenici služili u istraživanjima ovog fenomena poput praćenja stope rasta stanica, koncentracije fotosintetskih pigmenata i ugradnje radioaktivnih elemenata - kod starijih radova. Noviji radovi temeljeni su više na sekvenciranju i reverznoj transkripciji kako bi se utvrdila razlika među prehrambenim uvjetima na razini aktivnih enzimskih puteva.

Za dobivanje šire slike o raširenosti i načinima miksotrofije svakako bi trebalo sekvencirati veći broj algi, ali i identificirati uloge velikog broja neanotiranih sekvenci, možda za neke nove skupine receptora ili transkripcijskih faktora. Velik broj vrsta nije moguće uzgajati u kulturi te bi stoga trebalo razviti nove metode. Rasvjetljavanje uloge miksotrofije kod algi može pomoći pri konstrukciji točnijih modela hranidbenih mreža i ciklusa kruženja elemenata što, na kraju, ima primjenu pri proučavanju i klimatskih promjena. Također, mnoge industrijske važne vrste algi su miksotrofi, tako da bi nova saznanja mogla dovesti do povećanja efikasnosti proizvodnje spojeva od interesa.

Bilo bi interesantno saznati koje su molekularni razlozi za interakcije točno određenih vrsta algi kad su u pitanju različiti oblici simbioze. Također, postoje li posebni transkripcijski faktori koji aktiviraju ili utišavaju velik broj gena u stanjima gladovanja ili obilja te postoje li receptori, i koji su točni signalni putevi koji daju informaciju o dostupnosti neke hranjive soli.

4. LITERATURA

Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C. L., Smirnov, A. & Spiegel, F. W. (2012). The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal Of Eukaryotic Microbiology*, *59*(5), 429-514. doi:10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x

Anderson, R., Charvet, S., & Hansen, P. J. (2018). Mixotrophy in Chlorophytes and Haptophytes—Effect of Irradiance, Macronutrient, Micronutrient and Vitamin Limitation. *Frontiers in Microbiology*, *9*. doi:10.3389/fmicb.2018.01704

Biller, S. J., Coe, A., Roggensack, S. E., & Chisholm, W. (2018). Heterotroph Interactions Alter Prochlorococcus Transcriptome. *MSystems*, *3*(3), 1–18. doi:10.1128/mSystems.00040-18

Bird, D. F., & Kalff, J. (1987). Algal phagotrophy: Regulating factors and ance relative to photosynthesis in Dinobryon (Chrysophyceae)1. *Limnology and Oceanography*, *32*(2), 277-284. doi:10.4319/lo.1987.32.2.0277

Boëchat, I. G., Weithoff, G., Krüger, A., Gücker, B., & Adrian, R. (2007). A biochemical explanation for the success of mixotrophy in the flagellate Ochromonas sp. *Limnology and Oceanography*, *52*(4), 1624–1632. doi:10.4319/lo.2007.52.4.1624

Boraas, M. E., Estep, K. W., Johnson, P. W., & Sieburth, J. M. N. (1988). Phagotrophic Phototrophs: The Ecological Significance of Mixotrophy1,2. *The Journal of Protozoology*, *35*(2), 249–252. doi:10.1111/j.1550-7408.1988.tb04336.x

Brutemark, A., & Granéli, E. (2011). Role of mixotrophy and light for growth and survival of the toxic haptophyte Prymnesium parvum. *Harmful Algae*, *10*(4), 388-394. doi:10.1016/j.hal.2011.01.005

Caron, D., Sanders, R., Lim, E., Marrasé, C., Amaral, L., & Whitney, S., Aoki, S., Porter, R.B.K.G. (1993). Light-dependent phagotrophy in the freshwater mixotrophic chrysophyte Dinobryon cylindricum. *Microbial Ecology*, *25*(1). doi:10.1007/bf00182132

Chen, T., Chen, T., Hung, L., & Huang, T. (1991). Circadian Rhythm in Amino Acid Uptake by Synechococcus RF-1. *PLANT PHYSIOLOGY*, *97*(1), 55-59. doi:10.1104/pp.97.1.55

Chen X, Schreiber K, Appel J, Makowka A, Fähnrich B, Roettger M, Hajirezaei M. R., Sönnichsen F.D., Schönheit P, Martin W. F., & Gutekunst K. (2016). The Entner–Doudoroff pathway is an overlooked glycolytic route in cyanobacteria and plants. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, *113*(19), 5441-5446. doi:10.1073/pnas.1521916113

Craveiro, S. C., Calado, A. J., Daugbjerg, N., Hansen, G., & Moestrup, Ø. (2011). Ultrastructure and LSU rDNA-based Phylogeny of Peridinium lomnickii and Description of Chimonodinium gen. nov. (Dinophyceae). *Protist*, *162*(4), 590-615. doi:10.1016/j.protis.2011.03.003

Currie, D., & Kalff, J. (1984). Can bacteria outcompete phytoplankton for phosphorus? a chemostat test. *Microbial Ecology*, *10*(3), 205-216. doi:10.1007/bf02010935

Decelle, J., Colin, S., & Foster, R. (2015). *Marine Protists: Photosymbiosis in Marine Planktonic Protists* (pp. 465-500). New York: Springer.

Delwiche, C., & Cooper, E. (2015). The Evolutionary Origin of a Terrestrial Flora. *Current Biology*, *25*(19), R899-R910. doi:10.1016/j.cub.2015.08.029

Diaz, M. M., & Maberly, S. C. (2009). Carbon-concentrating Mechanisms in Acidophilic Algae. *Phycologia*, *48*(2), 77-85. doi:10.2216/08-08.1

Duhamel, S., Van Wambeke, F., Lefevre, D., Benavides, M., & Bonnet, S. (2018). Mixotrophic metabolism by natural communities of unicellular cyanobacteria in the western tropical South Pacific Ocean. *Environmental Microbiology*. doi:10.1111/1462-2920.14111

Falkowski, P. G., & Raven, J. A. (2007). *Aquatic photosynthesis*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Fenchel, T. (1982). Ecology of Heterotrophic Microflagellates. IV Quantitative Occurrence and Importance as Bacterial Consumers. *Marine Ecology Progress Series*, *9*, 35-42. doi:10.3354/meps009035

Feng, X., Bandyopadhyay, A., Berla, B., Page, L., Wu, B., Pakrasi, H. B., & Tang, Y. J. (2010). Mixotrophic and photoheterotrophic metabolism in Cyanothece sp. ATCC 51142 under continuous light. *Microbiology*, *156*(8), 2566–2574. doi:10.1099/mic.0.038232-0

Flamholz, A., Noor, E., Bar-Even, A., Liebermeister, W., & Milo, R. (2013). Glycolytic strategy as a tradeoff between energy yield and protein cost. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(24), 10039-10044. doi:10.1073/pnas.1215283110

Garcia-Cuetos, L., Moestrup, Ø., Hansen, P. J., & Daugbjerg, N. (2010). The toxic dinoflagellate Dinophysis acuminata harbors permanent chloroplasts of cryptomonad origin, not kleptochloroplasts. *Harmful Algae*, *9*(1), 25-38. doi:10.1016/j.hal.2009.07.002

Gaudana, S. B., Krishnakumar, S., Alagesan, S., Digmurti, M. G., Viswanathan, G. A., Chetty, M., & Wangikar, P. P. (2013). Rhythmic and sustained oscillations in metabolism and gene expression of Cyanothece sp. ATCC 51142 under constant light. *Frontiers in Microbiology*, *4*. doi:10.3389/fmicb.2013.00374

Gómez-Baena, G., López-Lozano, A., Gil-Martínez, J., Lucena, J. M., Diez, J., Candau, P., & García-Fernández, J. M. (2008). Glucose uptake and its effect on gene expression in Prochlorococcus. *PLoS ONE*, *3*(10), 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0003416

Griffiths, D. (1980). The pyrenoid and its role in algal metabolism. *Science Progress*, *66*(264), 537-553.

Guerrero, M., Vega, J., & Losada, M. (1981). The Assimilatory Nitrate-Reducing System and its Regulation. *Annual Review Of Plant Physiology*, *32*(1), 169-204. doi:10.1146/annurev.pp.32.060181.001125

Hansen, P., Miranda, L., & Azanza, R. (2004). Green Noctiluca scintillans: a dinoflagellate with its own greenhouse. *Marine Ecology Progress Series*, *275*, 79-87. doi:10.3354/meps275079

Hoek, C., Mann, D., & Jahns, H. (1995). *Algae An Introduction to Phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Jochem, F. J. (1999). Dark survival strategies in marine phytoplankton assessed by cytometric measurement of metabolic activity with fluorescein diacetate. *Marine Biology*, *135*(4), 721-728. doi:10.1007/s002270050673

Johansson, N., & Granéli, E. (1999). Influence of different nutrient conditions on cell density, chemical composition and toxicity of Prymnesium parvum (Haptophyta) in semi-continuous cultures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *239*(2), 243-258. doi:10.1016/s0022-0981(99)00048-9

Joseph, V., & Joseph, A. (2001). Microalgae in Petrochemical Effluent: Growth and Biosorption of Total Dissolved Solids. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *66*(4), 522-527. doi:10.1007/s001280038

Krishnakumar, S., Gaudana, S. B., Digmurti, M. G., Viswanathan, G. A., Chetty, M., & Wangikar, P. P. (2015). Influence of mixotrophic growth on rhythmic oscillations in expression of metabolic pathways in diazotrophic cyanobacterium Cyanothece sp. ATCC 51142. *Bioresource Technology*, *188*, 145–152. doi:10.1016/j.biortech.2015.02.016

Legrand, C. (2001). Phagotrophy and toxicity variation in the mixotrophic Prymnesium patelliferum (Haptophyceae). *Limnology and Oceanography*, *46*(5), 1208-1214. doi:10.4319/lo.2001.46.5.1208

Lie, A. A. Y., Liu, Z., Terrado, R., Tatters, A. O., Heidelberg, K. B., & Caron, D. A. (2017). Effect of light and prey availability on gene expression of the mixotrophic chrysophyte, Ochromonas sp. *BMC Genomics*, *18*(1), 1–16. doi:10.1186/s12864-017-3549-1

Liessens, J., Vanbrabant, J., De Vos, P., Kersters, K., & Verstraete, W. (1992). Mixed culture hydrogenotrophic nitrate reduction in drinking water. *Microbial Ecology*, *24*(3), 271-290. doi:10.1007/bf00167786

Liu, Z., Jones, A. C., Campbell, V., Hambright, K. D., Heidelberg, K. B., & Caron, D. A. (2015). Gene expression in the mixotrophic prymnesiophyte, Prymnesium parvum, responds to prey availability. *Frontiers in Microbiology*, *6*(MAR), 1–12. doi:10.3389/fmicb.2015.00319

Madhu, N. V., Jyothibabu, R., Maheswaran, P. A., Jayaraj, K. A., & Achuthankutty, C. T. (2012). Enhanced chlorophyllaand primary production in the northern Arabian Sea during the spring intermonsoon due to green Noctiluca scintillans bloom. *Marine Biology Research*, *8*(2), 182-188. doi:10.1080/17451000.2011.605143

Minnhagen, S., Kim, M., Salomon, P., Yih, W., Granéli, E., & Park, M. (2011). Active uptake of kleptoplastids by Dinophysis caudata from its ciliate prey Myrionecta rubra. *Aquatic Microbial Ecology*, *62*(1), 99-108. doi:10.3354/ame01459

Moestrup, Ø. (1994). Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Proceedings of the Fifth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton, Newport, Rhode Island, 28 Oct–1 Nov 1991. *Phycologia*, *33*(5), 396-396. doi:10.2216/i0031-8884-33-5-396.1

Moore Lisa R., Post Anton F., Rocap Gabrielle, Chisholm Sallie W., (2002), Utilization of different nitrogen sources by the marine cyanobacteria Prochlorococcus and Synechococcus, Limnology and Oceanography, 4, doi:10.4319/lo.2002.47.4.0989.

Munoz-Marin, M. d. C., Luque, I., Zubkov, M. V., Hill, P. G., Diez, J., & Garcia-Fernandez, J. M. (2013). Prochlorococcus can use the Pro1404 transporter to take up glucose at nanomolar concentrations in the Atlantic Ocean. *Proceedings of the National Academy*

Nishitani, G., Nagai, S., Hayakawa, S., Kosaka, Y., Sakurada, K., Kamiyama, T., & Gojobori, T. (2011). Multiple Plastids Collected by the Dinoflagellate Dinophysis mitra through Kleptoplastidy. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(3), 813-821. doi:10.1128/aem.06544-1

Olli, K., & Trunov, K. (2007). Self-toxicity of Prymnesium parvum (Prymnesiophyceae). *Phycologia*, *46*(1), 109-112. doi:10.2216/06-32.1

Palenik, B., Brahamsha, B., Larimer, F., Land, M., Hauser, L., Chain, P., Lamerdin, J., Regala, W., Allen, E. E., Mccarren, J., Paulsen, I., Dufresne, A., Partensky, F., Webb, E. A., & Waterbury, J. (2003). The genome of a motile marine Synechococcus. Nature, 424(6952), 1037-1042. doi:10.1038/nature01943

Pearce, J., Leach, C. K., & Carr, N. G. (1969). The Incomplete Tricarboxylic Acid Cycle in the Blue-green Alga Anabaena Variabilis. *Journal of General Microbiology*, *55*(3), 371-378. doi:10.1099/00221287-55-3-371

Pelroy, R. A., Rippka, R., & Stanier, R. Y. (1972). Metabolism of glucose by unicellular blue-green algae. *Archiv Für Mikrobiologie*, *87*(4), 303–322. doi:10.1007/BF00409131

Reddy, K. J., Haskell, J. B., Sherman, D. M., & Sherman, L. A. (1993). Unicellular, aerobic nitrogen-fixing cyanobacteria of the genus Cyanothece. *Journal of Bacteriology*, *175*(5), 1284-1292. doi:10.1128/jb.175.5.1284-1292.1993

Rocap, G., Larimer, F. W., Lamerdin, J., Malfatti, S., Chain, P., Ahlgren, N. A., Arellano, A., Coleman, M., Hauser, L., Hess, W. R., Johnson, Z. I., Land, M., Lindell, D., Post, A. F., Regala, W., Shah, M., Shaw, S. L., Steglich, C., Sullivan, M. B., Ting, C. S., Tolonen, A., Webb, E. A., Zinser, E. R., & Chisholm, S. W. (2003). Genome divergence in two Prochlorococcus ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature*, *424*(6952), 1042–1047. doi:10.1038/nature01947

Rothhaupt, K. O. (1996). Laboratorary Experiments with a Mixotrophic Chrysophyte and Obligately Phagotrophic and Photographic Competitors. *Ecology*, *77*(3), 716-724. doi:10.2307/2265496

Rothhaupt, K. O. (1996). Utilization of Substitutable Carbon and Phosphorus Sources by the Mixotrophic Chrysophyte Ochromonas Sp. *Ecology*, *77*(3), 706-715. doi:10.2307/2265495

Rottberger, J., Gruber, A., Boenigk, J., & Kroth, P. (2013). Influence of nutrients and light on autotrophic, mixotrophic and heterotrophic freshwater chrysophytes. *Aquatic Microbial Ecology*, *71*(2), 179-191. doi:10.3354/ame01662

Saito, H., Furuya, K., & Lirdwitayaprasit, T. (2006). Photoautotrophic growth of Noctiluca scintillans with the endosymbiont Pedinomonas noctilucae. *Plankton and Benthos Research*, *1*(2), 97-101. doi:10.3800/pbr.1.97

Sanders, R. W., Porter, K. G., & Caron, D. A. (1990). Relationship between phototrophy and phagotrophy in the marine chrysophyte Proterioochromonas malhamensis. *Microbial Ecology*, *19*(1), 97–109.

Schoener, D., & McManus, G. (2012). Plastid retention, use, and replacement in a kleptoplastidic ciliate. *Aquatic Microbial Ecology*, *67*(3), 177-187. doi:10.3354/ame01601

Skovgaard, A. (1998). Role of chloroplast retention in a marine dinoflagellate. *Aquatic Microbial Ecology*, *15*(3), 293–301. doi:10.3354/ame015293

Stoecker, D. K., Hansen, P. J., Caron, D. A., & Mitra, A. (2017). Mixotrophy in the Marine Plankton. *Annual Review of Marine Science*, *9*(1), 311–335. doi:10.1146/annurev-marine-010816-060617

Stoecker, D. (1998). Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *European Journal Of Protistology*, *34*(3), 281-290. doi:10.1016/s0932-4739(98)80055-2

Stuart, R., Mayali, X., Lee, J., Craig Everroad, R., Hwang, M., Bebout, B., M., Weber, P. K., Pett-Ridge, J., & Thelen, M. P. (2015). Cyanobacterial reuse of extracellular organic carbon in microbial mats. *The ISME Journal*, *10*(5), 1240-1251. doi:10.1038/ismej.2015.180

Subashchandrabose, S. R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., & Naidu, R. (2013). Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. *Environment International*, *51*, 59–72. doi:10.1016/j.envint.2012.10.007

Terrado, R., Pasulka, A. L., Lie, A. A., Orphan, V. J., Heidelberg, K. B., & Caron, D. A. (2017). Autotrophic and heterotrophic acquisition of carbon and nitrogen by a mixotrophic chrysophyte established through stable isotope analysis. *The ISME Journal*, *11*(9), 2022-2034. doi:10.1038/ismej.2017.68

Tilden, J. (1933). A Classification of the Algae Based on Evolutionary Development, with Special Reference to Pigmentation. *Botanical Gazette*, *95*(1), 59-77. doi:10.1086/3343

Tillmann, U. (2003). Kill and eat your predator: a winning strategy of the planktonic flagellate Prymnesium parvum. *Aquatic Microbial Ecology*, *32*, 73-84. doi:10.3354/ame032073

Toepel, J., Welsh, E., Summerfield, T. C., Pakrasi, H. B., & Sherman, L. A. (2008). Differential Transcriptional Analysis of the Cyanobacterium Cyanothece sp. Strain ATCC 51142 during Light-Dark and Continuous-Light Growth. *Journal of Bacteriology*, *190*(11), 3904-3913. doi:10.1128/jb.00206-08

Wilken, S., Schuurmans, J. M., & Matthijs, H. C. P. (2014). Do mixotrophs grow as photoheterotrophs? Photophysiological acclimation of the chrysophyte ochromonas danica after feeding. *New Phytologist*, *204*(4), 882–889. doi:10.1111/nph.12975

Wisecaver, J. H., & Hackett, J. D. (2010). Transcriptome analysis reveals nuclear-encoded proteins for the maintenance of temporary plastids in the dinoflagellate Dinophysis acuminata. *BMC Genomics*, *11*(1), 366. doi:10.1186/1471-2164-11-366

Yelton, A. P., Acinas, S. G., Sunagawa, S., Bork, P., Pedrós-Alió, C., & Chisholm, S. W. (2016). Global genetic capacity for mixotrophy in marine picocyanobacteria. *ISME Journal*, *10*(12), 2946–2957. doi:10.1038/ismej.2016.64

Zubkov, M. V, Fuchs, B. M., Tarran, G. A., Burkill, P. H., & Amann, R. (2003). High Rate of Uptake of Organic Nitrogen Compounds by Prochlorococcus Cyanobacteria as a key to their dominance in Oligotrophic oceanic waters. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(2), 1299–1304. doi:10.1128/AEM.69.2.1299

5. SAŽETAK

Alge su genetski i fiziološki raznolika skupina s vrlo različitim prehrambenim strategijama. Povijesna podjela na autotrofe i heterotrofe ne može se primijeniti na veliki broj vrsta te je mogućnost miksotrofije kao načina ishrane dugo bila zanemarivana. Miksotrofija predstavlja kombinaciju autotrofnog (najčešće fotosintetskog) i heterotrofnog načina ishrane. Ovisno o načinu dobivanja ugljika, ali i ostalih bitnih minerala poput dušika, fosfora i željeza te vitamina, u živom je svijetu prisutan čitav spektar različitih načina ishrane koji uključuje i miksotrofiju. Tako je moguće razlikovati: 1) primarno fototrofne vrste sposobne za heterotrofan način ishrane, 2) primarno fagotrofne vrste, 3) obligatne miksotrofne vrste te mnoge slučajeve koji predstavljaju kombinaciju ta tri navedena. Miksotrofija je prisutna kod mnogobrojnih vrsta cijanobakterija, Chrysophyta, Haptophyta, Dinophyta i Chlorophyta. Neke od miksotrofnih vrsta važne su jer uzrokuju pojavu cvjetanja mora ili su zbog svoje brojnosti i/ili biomase bitan čimbenik u globalnom kruženju ugljika i ostalih elemenata. U radu su prezentirane skupine algi s različitim oblicima miksotrofije, kao i metode korištene u izučavanju ovog fenomena.

6. SUMMARY

Algae are genetically and physiologically heterogenous group with different nutritional strategies. Historical division on autotrophic and heterotrophic organisms can not be applied to a huge number of species, while the contribution of mixotrophy often went unrecognised. Mixotrophy entails the ability to conduct both autotrophic (mostly photosynthetic) and heterotrophic lifestyle. A wide nutritional spectrum exists considering the accumulation of carbon, but also of other important minerals such as nitrogen, phosphorus, iron and vitamins. Specifically, organisms can be divided into: 1) primary phototrophs with additional heterotrophic ability, 2) primary phagotrophs. and 3) obligate mixotrophs demanding both light and prey, with many other cases in-between the three aforementioned. Mixotrophy exists among numerous species of cyanobacteria, Chrysophyta, Haptophyta, Dinophyta and Chlorophyta. Some of these species are important because of their role in forming toxic algal blooms, while others have a significant contribution in the global cycling of carbon and other elements. This review presents various groups of algae with different levels of mixotrophy, as well as methods used for studying this phenomenon.