Endosimbioza i bioraznolikost

Korša, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2013

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:217:078960

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

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

ENDOSIMBIOZA I BIORAZNOLIKOST

ENDOSYMBIOSIS AND BIODIVERSITY

SEMINARSKI RAD

Ana Korša
Preddiplomski studij znanosti o okolišu
(Undergraduate Study of Environmental Sciences)
Mentor: prof. dr. sc. Goran Kovačević

Zagreb, 2013.

SADRŽAJ

1. Uvod **2**

2. Važnost endosimbioze **3**

2. 1. Endosimbiotska teorija postanka eukariotske stanice *3*

2. 2. Simbiogeneza *4*

2. 3. Raznolikost i evolucija plastida *5*

3. Endosimbioza u životinjskom svijetu **7**

3. 1. Fotosintetska simbioza u životinja *7*

3. 2. Endosimbioza zelene hidre i jednostaničnih fotoautotrofnih algi *8*

3. 3. Endosimbioza puža Elysia chlorotica i kloroplasta alge Vaucheria littorea *11*

3. 4. Endosimbioza zelene alge i embrija daždevnjaka vrste Ambystoma maculatum *14*

4. Zaključak **17**

5. Literatura **18**

6. Sažetak **21**

7. Summary **21**

1. Uvod

Većina životinjskih i biljnih vrsta živi u svojevrsnom odnosu s drugim vrstama organizama. Takvi odnosi nazivaju se simbiozama. Simbioze predstavljaju dugotrajan i tijesan suživot dvaju ili više različitih organizama koji mogu živjeti u takvom suživotu većinu ili dio svog života. Ako se unutar stanica jednog organizma nalazi organizam različitog evolucijskog podrijetla, govori se o endosimbiozi. Endosimbioza je evolucijski značajna jer se pomoću nje objašnjava postanak organela eukariotske stanice mitohondrija i kloroplasta. Osim toga, važna je jer se primjeri takve vrste suživota nalaze u različitim sistematskim kategorijama organizama te tako uzrokuju veliku raznolikost u živom svijetu (Habetha i sur, 2003; Witzany, 2006). Najčešći endosimbionti su alge koje svojim domaćinima priskrbljuju produkte fotosinteze. Takve odnose nalazimo u žarnjacima, spužvama, dinoflagelatima, foraminiferama, mekušcima pa čak i nekim kralješnjacima.

U ovom seminarskom radu probat ću ukazati na važnost endosimbiotskih događaja koji su uzrokovali raznolikost plastida u svijetu algi. Također, željela bih dati uvid u fotosintetske endosimbioze koje se događaju u životinjskom svijetu. S obzirom na to da je njihov broj velik, izabrala sam tri primjera koji se, po mom mišljenju, ističu i prikazuju kompleksnost ovih odnosa. Hidra je primjer najbolje opisane simbioze te tipičan primjer endosimbioze. Za razliku od nje, puž *Elysia chlorotica* i daždevnjak *Ambystoma maculata* primjeri su novije opisanih simbioza koje se razlikuju i izdvajaju od ostalih opisanih primjera.

2. Važnost endosimbioze

Endosimbioza je suživot dvaju vrsta organizama u kojem jedan simbiont (endosimbiont) živi unutar stanice drugog. Ako se unutar jedne citoplazme nađu dva genoma različitog evolucijskog podrijetla, to je siguran dokaz da se radi o endosimbiozi. Prema endosimbiotskoj teoriji, eukariotska stanica nastala je stapanjem arhebakterijskih i eubakterijskih stanica u anaerobnoj simbiozi iz čega su nastali plastidi i mitohondriji (Witzany, 2006).

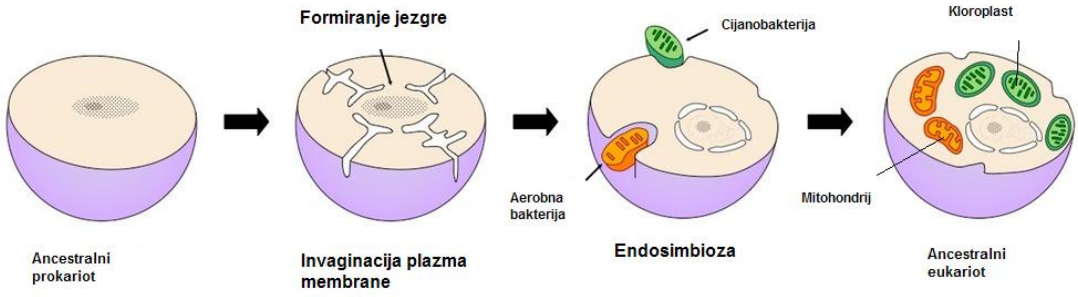
2. 1. Endosimbiotska teorija postanka eukariotske stanice

A. F. W. Schimper bio je prvi čovjek koji je zamijetio da plastidi biljnih stanica, koji se dijele binarnom diobom neovisno o jezgri stanice u kojoj se nalaze, nalikuju na slobodnoživuće cijanobakterije. Ruski botaničar Konstantin Mereschowski, upoznat sa Schimperovim zapažanjima, pokušao je sistematizirati ovu teoriju te je iznio prve koncepte višestruke endosimbioze koja je rezultirala različitim tipovima plastida. Zbog nedostatka konkretnih dokaza, ove pretpostavke bile su zanemarene i ignorirane. Otkrićem plastidne i mitohondrijske DNA te razvojem tehnologije u šezdesetim godinama 20. stoljeća teorija se počela razvijati i upotpunjavati (McFadden, 2001). Prvu cjelovitu teoriju serijske endosimbioze iznijela je 1970. u svojoj knjizi "Origin of Eukaryotic Cells" engleska znanstvenica Lynn Margulis (Margulis, 1970) koja je proučavala sličnosti između prokariotskih organizama i organela eukariotske stanice (plastida i mitohodondrija) te je došla do zaključka da se sličnosti mogu objasniti endosimbiozom. Ona razlikuje endosimbiozu od endocitoze. Endocitoza je proces u kojem jedna stanica zahvaća drugu te ju probavlja, dok u endosimbiozi ne dolazi do probavljanja, već dolazi do suživota u kojem oba organizma imaju uzajamnu korist.

Predložila je hipotezu prema kojoj je anaerobna bakterija progutala aerobnu bakteriju te nije došlo do probavljanja jer su obje bakterije od zajedničkog života imale uzajamnu korist i evolucijsku prednost. Prema tome je endosimbioza anaerobne bakterije, koja nije mogla opstati u aerobnom okolišu, i aerobne bakterije rezultirala nastankom mitohondrija, dok je endosimbioza anaerobne i fotosintetske bakterije rezultirala nastankom kloroplasta (sl. 1).

U prilog toj teoriji idu sličnosti između prokariota i tih eukariotskih organela, npr. DNA mitohondrija i kloroplasta je kružna i gola kao bakterijska, enzimi elektronskog transportnog lanca nalaze se u plazma membrani bakterije i unutarnjoj membrani organela, organeli i bakterije dijele se binarnom diobom, ribosomi organela i prokariota su 70 S, veličina prokariota i organela je između 1 i 10 mikrona (Crnek-Kunstelj i sur., 2003).

Osim navedenog, u prilog endosimbiotskoj teoriji nastanka eukariotske stanice ide pronađena DNA u citoplazmi protoktista, biljaka, životinja i gljiva koja ima podrijetlo od gena bakterija koje su postale organeli, a ne od mutacija ili genetičkog drifta (Witzany, 2006).



Slika 1. Postanak mitohondrija i kloroplasta

(www.ib.bioninja.com.au)

2. 2. Simbiogeneza

Teorija serijske endosimbioze je revolucionarna jer kao evolucijski vektor predlaže stapanje organizama umjesto njihove radijacije te odbacuje mutacije kao uzrok koji je započeo evoluciju prokariota u eukariote. Glavni pojmovi koji se koriste su stapanje, fuzija, ugradnja i intergracija različitih organizama koji su doveli do nastanka eukariotske stanice. Prema tome glavna sila evolucije je simbiogeneza, odnosno stapanje dvaju različitih organizama u jedan novi organizam. Važan čimbenik u simbiogenezi jest redoslijed integracije tijekom simbiogeneze, odnosno serijska evolucija. Prvo stapanje dogodilo se između arhebakterije i pokretne eubakterije. Budući da je ovaj oblik bio anaeroban, a u okolišu je došlo po povećanja koncentracije kisika, uslijedilo je stapanje s aerobnim organizmima gdje je zadnji korak bio stapanje s fotosintetskom bakterijom (Witzany, 2006). Pojam simbiogeneze

uveli su Mereschkowsky i Wallin, a Margulis ga je kasnije koristila i popularizirala. Mereschkowsky, Wallin i Margulis tvrdili su da nova tkiva, organi, organizmi i vrste nastaju iz vremenski dugačke i trajne simbioze (Margulis, 1970; Witzany, 2006). Cjelovitu teoriju simbiogeneze iznio je ruski botaničar Boris Mikhaylovich Kozo-Polyanski, 1924. godine. Kozo-Polyanski je koristio već definirani Mereschkowskyev termin simbiogeneze, no razradio je cijeli koncept proučavajući i opisujući razne primjere simbioze. Uočio je da u simbiozi raste međuovisnost organizama te da njihova dugotrajna zajednica može rezultirati novim, kompleksnijim organizmom. Definirao je simbiozu kao važnu strategiju preživljavanja jer intergracijom organizama raste njihova adaptivna vrijednost (Kozo-Polyanski, Margulis, 2010).

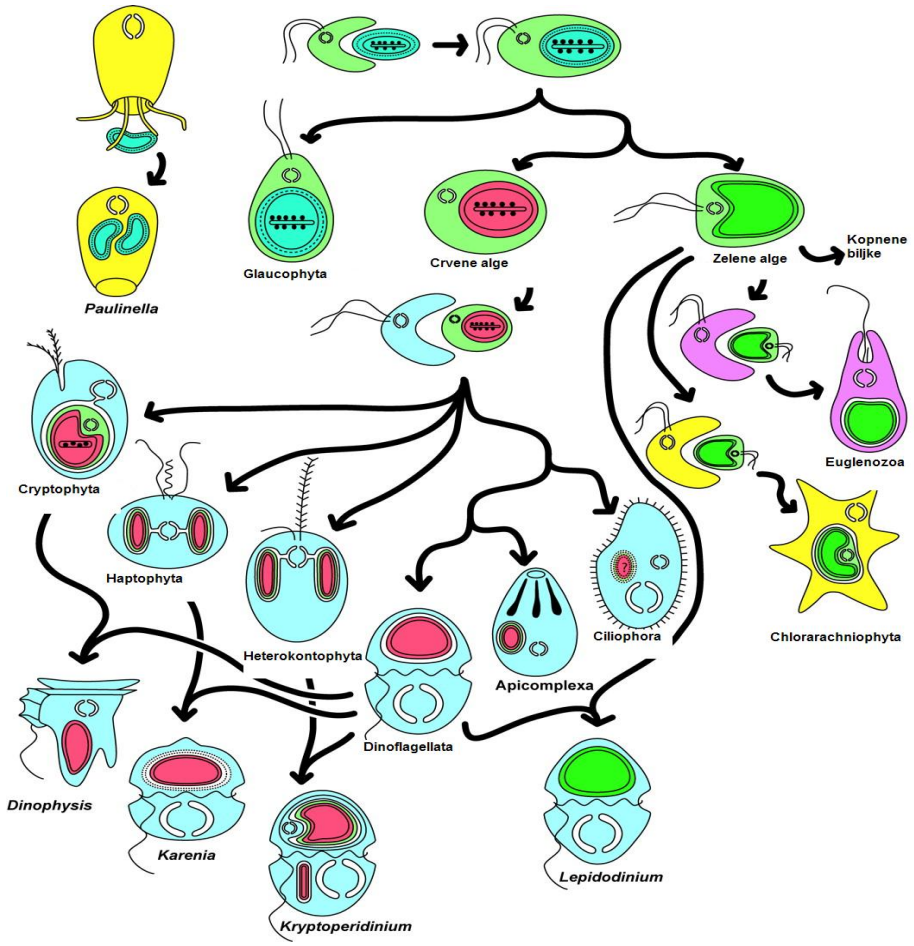
2. 3. Raznolikost i evolucija plastida

Postanak plastida endosimbiozom protista i cijanobakterije uzrokovao je veliku raznolikost u svijetu fotosintetskih organizama, odnosno algi. Plastid je pronađen u raznovrsnim oblicima kao što su mikroskopske dijatomeje, toksični dinoflagelati, crvene alge, zelene alge, kopnene biljke. Endosimbioza kojom je nastala raznolikost biljnog i algalnog svijeta dijeli se na primarnu, sekundarnu i tercijarnu (Bhattacharya i sur., 2004). Smatra se da se primarna endosimbioza dogodila jedamput u evolucijskom razvoju stvarajući proto-algu koja je nosila ishodišni oblik za sve plastide. Anaerobni jednostanični protist obuhvatio je cijanobakteriju iz koje je nastao plastid omeđen s dvije membrane: prvom unutarnjom, te drugom vanjskom membranom cijanobakterije. Ova endosimbioza imala je velik utjecaj na ranu evoluciju algi obogaćujući jezgrin genom s genima cijanobaketrije. Iz proto-alge su se razvili glaucophyta, rhodophyta (crvene alge), chlorophyta (zelene alge) te kopnene biljke (sl. 2) (Bhattacharya i sur., 2004).

Sekundarna endosimbioza označava endosimbiozu između dva eukariota koja se dogodila kada je protist obuhvatio postojeću algu. Takva endosimbioza između različitih eukariota rezultirala je raznolikošću plastida i algi. (sl. 2). Sekundarni ili kompleksni plastidi pronađeni su u algama koje sadrže klorofil c (chromophyta) te u oblicima algi i biljaka koje sadrže klorofil b (Euglenozoa, Chlorarachniophyta). On se prepoznaje po tome što ima tri ili četiri omeđujuće membrane. Smatra se da je treća membrana plazma membrana obuhvaćene alge, a četvrta fagosomalna membrana stanice domaćina sekundarnog plastida. Osim membrana, sekundarni plastid može

sadržavati i ostatke jezgre algalnog endosimbionta. Taj reducirani genom naziva se nukleomorf te se nalazi između druge i treće plastidne membrane u takozvanom periplastidnom prostoru koji je prije bio citoplazma algalnog endosimbionta (Bhattacharya i sur., 2004).

Tercijarna endosimbioza označava događaj u kojem heterotrof obuhvaća algu sa sekundarnim plastidom. Novonastali plastid omeđen je s tri membrane te sadrži klorofil c2 i pigment peridinin (Bhattacharya i sur., 2004). Takav plastid zasad je pronađen u dinoflagelatima čija je raznolikost plastida uzrokovana njihovom sposobnošću da gube, zamjenjuju ili stječu nove plastide. Oni mogu imati sekundarno i tercijarno derivirane plastide. Tercijarni oblik pronađen je u toksičnom rodu *Dinophysis,* ali nije sigurno radi li se o kleptoplastiji, odnosno *posuđenom* kloroplastu (Keeling, 2004).



Slika 2. Raznolikost i evolucija plastida i njegovih domaćina
Prilagođeno prema Keeling, 2004

3. Endosimbioza u životinjskom svijetu

3. 1. Fotosintetska simbioza u životinja

Unatoč tome što je fotosinteza proces koji se odvija u biljkama i algama i koji se ne veže za carstvo životinja, mnoge životinje fotosintetiziraju zahvaljujući endosimbiozi s algama ili cijanobakterijama. Većina životinja s takvim fotosintetskim suživotom pripadnici su dvaju koljena: Porifera (spužve) te Cnidaria (žarnjaci). Većinu simbionata čine slatkovodne zelene alge roda *Chlorella* koje su pronađene u spužvama roda *Spongilla* te slatkovodnim hidrama. Osim *Chlorelle,* dinoflagelati roda *Symbiodinium* čine simbionte u nekim bentičkim marinskim domaćinima te grebenotvornim koraljima (sl. 3). Također, simbionti mogu biti i cijanobakterije koje su pronađene u brojnim morskim spužvama (Venn i sur., 2008).

Pretpostavlja se da je razlog zašto se ove endosimbioze događaju većinom u spužvama i žarnjacima njihova jednostavna građa tijela velike površine koja omogućuje hvatanje veće količine svjetla potrebne za fotosintezu. Žarnjaci su diploblastične životinje (vanjski epiderm i unutarnji gastroderm) te se mogu oblikovati i prilagođavati na razne načine za razliku od triploblastičnih životinja čije je tijelo relativno čvrsto, površina tijela po jedinici volumena mala zbog čega je smanjena mogućnost za apsorpciju svjetla. Međutim, fotosintetske simbioze su pronađene i u nekim mekušcima koji su relativno velike i morfološki kompleksnije životinje te su prilagođene za ovu vrstu međuodnosa (Venn i sur., 2008). Iz toga se može zaključiti da jednostavna građa tijela nije pravilo za uspostavu fotosintetske simbioze. Primjeri za to su daždevnjak *Ambystoma maculatum* i vrsta puža *Elysia chlorotica,* čije ću simbioze detaljnije objasniti.

Simbioze s algama pretežno su endosimbioze jer su stanice algi kod većine domaćina intracelularne te omeđene membranom domaćina, odnosno simbiosomalnom membranom. One se u većini odnosa nalaze u probavnom sustavu domaćina. Kod žaranjaka se nalaze u vakuolama u endodermalnom sloju, dok se kod nekih mekušaca nalaze u probavnim divertikulima. Većinu metaboličkih reakcija u ovom odnosu čini transport anorganskih nutrijenata od heterotrofnog domaćina do fotoautotrofnog algalnog simbionta (Yellowlees i sur., 2008). Simbionti dobivaju od stanice domaćina ugljikov dioksid i vodu za fotosintetske reakcije kao i sve ostale

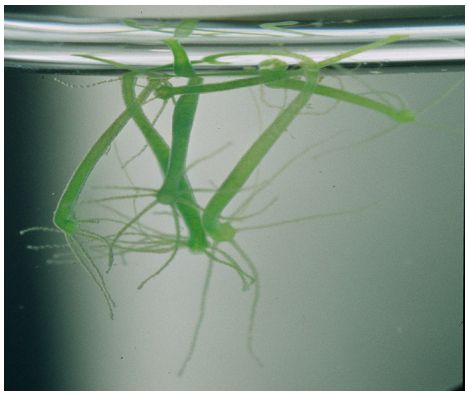
supstrate potrebne za sintezu staničnih sastojaka, uključujući i fotosintetski aparat (Venn i sur., 2008).

Domaćini su razvili biokemijske i stanične prilagodbe za dostavu anorganskih supstrata potrebnih algama. Tako su, na primjer, morski žarnjaci u simbiozi s vrstama roda *Symbiodium* razvili određene mehanizme potrebne za održavanje ovog simbiotskog odnosa. Održavaju visoku aktivnost ugljikove anhidraze (omogućuje brzo primanje i otpuštanje ugljikovog dioksida) te imaju specifične prijenosnike za dostavu bikarbonatnih iona stanicama koje sadrže algalne simbionte, što omogućuje održavanje visoke koncentracije ugljikovog dioksida kako bi moglo doći do fotosintetskog vezanja ugljika (Allemand i sur., 1998). Zauzvrat, simbiont pribavlja domaćinu produkte fotosinteze kako bi zadovoljio energetske i prehrambene potrebe domaćina. Takav odnos važan je u okolišima u kojima nedostaje nutrijenata te su alge bitan čimbenik u preživljavanju domaćina koji im daje prednost u takvom okolišu (Venn i sur., 2008).

Promjene u okolišu, odnosno povišena temperatura i zračenje mogu dovesti do proizvodnje reaktivnog kisika koji oštećuje membrane i proteine te uzrokuje izbjeljivanje odnosno gubitak boje. Gubitak boje se događa zbog eliminacije algalnih stanica ili gubitka algalnog pigmenta. Gubitkom algi, simbiont postaje aposimbiont. Posljedice ove pojave su reducirani rast i razmnožavanje, povećana mogućnost za bolesti i mehanička oštećenja te smrt domaćina (Brown, 1997; Weis i sur., 2008).

3. 2. Endosimbioza zelene hidre i jednostaničnih fotoautotrofnih algi

Ova endosimbioza jedna je od najbolje proučenih endosimbioza te je važan model za razumijevanje odnosa domaćina i simbionta u simbiotskom odnosu algi i beskralješnjaka (Kovačević i sur., 2010). Rod *Hydra* je slatkovodni polip koji taksonomski pripada razredu Hydrozoa unutar koljena Cnidaria. Vrste roda *Hydra* mogu se podijeliti u četiri grupe unutar kojih je u tri grupe prepoznata simbioza, no samo vrsta *Hydra viridissima* (sl. 3) čini stabilnu endosimbiozu sa zelenom algom (Kawaida i sur., 2013). Ostale vrste koje ne čine stabilnu endosimbiozu nazivaju se smeđim hidrama (Rahat i Reich, 1986). Može se dogoditi da hidra određeni period održava endosimbiotski odnos s algom, no nakon nekog vremena ju odbaci te nastavlja živjeti bez endosimbionata.



Slika 3. *Hydra viridissima*
(www.bioimages.org.uk)



Slika 4. Stanice alge *Chlorella*
(www.botany.natur.cuni.cz)

Jednostanične fotosintetske alge koje ulaze u simbioze s beskralješnjacima mogu se podijeliti na morske zooxanthellae i slatkovodne zoochlorellae. Zoochlorellae, odnosno jednostanične zelene alge roda *Chlorella* (sl. 4), čine simbionte slatkovodne vrste *Hydra viridissima*. Jednostanične alge nalaze se u gastrodermalnim mioepitelnim stanicama hidre zaštićene od probavnih enzima unutar perialgalnih vakuola (simbiosoma). U svakoj stanici hidre može se nalaziti 20 do 40 stanica alge *Chlorella* (Habetha i sur., 2003). Ova alga je polifiletskog podrijetla te je njena filogenija i taksonomija još podložna istraživanjima. Molekularne analize pokazale su da različite vrste i rodovi jednostaničnih fotoautotrofnih algi može biti prisutno kao endosimbiont u hidri, ovisno o njenom prirodnom staništu te različitim sojevima hidre (Kovačević i sur., 2010). Ovaj odnos primjer je mutualističke endosimbioze jer se temelji na međusobnoj koristi prilikom čega hidra zelenoj algi pruža stanište te ugljikov dioksid i ostale nutrijente. Aminokiseline, koje su izvor nitrata, dostavljaju se u perialgalne vakuole gdje se asimiliraju, obrađuju te vraćaju nazad domaćinu. Većina produkata fotosinteze (ugljikohidrati, kisik) dostavljaju se domaćinu. Hidra sa simbiotskom algom ima svojevrsnu prednost jer u slučaju gladovanja, svjetlost može kompenzirati nedostatak nutrijenata te pomoću fotosintetski vezanog ugljika, alga može sintetizirati maltozu i time omogućiti rast hidre i u nepovoljnim uvjetima.

Potrebne su određene adaptacije hidre i alge koje omogućuju uspostavu ove simbioze. Naime, hidra razlikuje svog simbionta od ostalih čestica. Nakon što je alga fagocitozom zahvaćena u gastroderm, ona stimulira indukciju mikrovila na apikalnoj strani gastrodermalnih stanica. Specifični proteini koji se nalaze na stanicama algi stimuliraju nespecifičnu fagocitozu i smještaj stanica u zasebne simbiosome gdje su

zaštićene od stapanja s lizosomom (Kovačević, 2012). Maltoza, koju proizvode alge roda *Chlorella,* odgovorna je za sprječavanje spajanja simbiosoma s lizosomom. Količina maltoze koju proizvodi alga proporcionalna je sa snižavanjem pH vrijednosti. Naime, pH kontrolira otpuštanje lizosomalnih enzima u fagosom te pri sniženom pH alga počinje sintetizirati veće količine maltoze (Cernichiari i sur., 1969). Nakon što se uspostave stabilni uvjeti, algalne stanice se smještaju bliže mezogleji gdje nema aktivne intracelularne probave.

Dijeljenje stanica hidre, koja se u povoljnim uvjetima razmnožava pupanjem mora biti usklađeno s diobom stanica algi. Njihova gustoća regulirana je različitim mehanizmima kako bi se održao pravilan omjer stanica hidre i algi. Jedan od mehanizama su male i privremene promjene pH vrijednosti u perialgalnom prostoru. Naime, pri nižim pH vrijednostima, fotosintetski vezan ugljik koristi se za proizvodnju i ispuštanje maltoze dok pri višim pH vrijednostima, fotosintetski vezan ugljik koristi se za rast i diobu stanica (Douglas i Smith, 1984). Izbacivanje stanica algi iz domaćina, također je jedan od mehanizama regulacije njihove gustoće. Isti čimbenici, npr. temperatura, utječu na diobu stanica algi te na njihovo izbacivanje (Baghdasarian i Muscatine, 2000). Ako dođe do nedostatka hrane u okolišu, smanjuje se veličina polipa hidre pa dolazi do ingestije stanica algi kako bi veličina simbionata bila uravnotežena (Dunn, 1987).

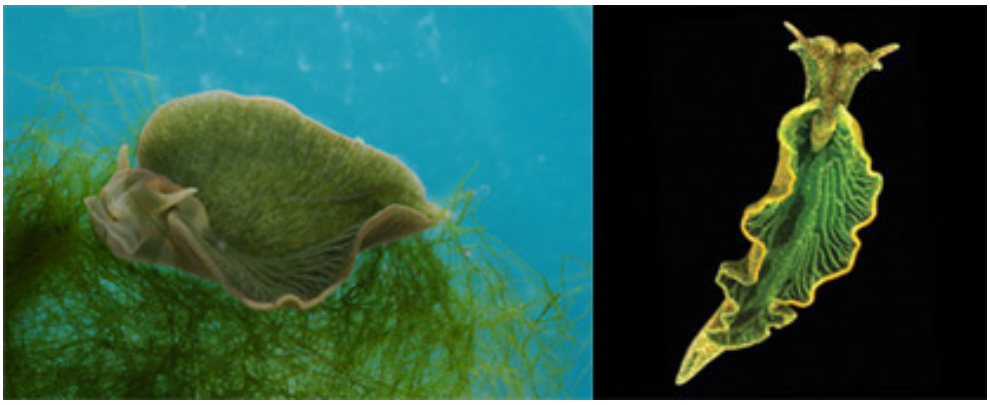
U nepovoljnim okolišnim uvjetima, iz intersticijskih stanica hidre nastaju jajnici i testisi. Proučavanjem simbiotske i aposimbiotske hidre primijećeno je da klorela ima ulogu u spolnoj diferencijaciji hidre. Naime, oogoniji se formiraju samo u prisutnosti zelene alge, dok se spremtogeneza odvija jednako u aposimbiotskim i simbiotskim hidrama. Zanimljivo je da tijekom oogeneze alga osigurava svoj prijenos u sljedeću generaciju transportirajući se iz endodermalnih epitelnih stanica u ektoderm u oocite (Habetha i sur., 2003). Sekvenciranjem gena zelene hidre, zamijećeno je da tijekom oogeneze dolazi do ekspresije biljnog peroksidaznog gena HvAPX1, koji nije pronađen u životinjama. Nije posve jasno zašto se gen koji je karakterističan za biljke našao u genomu hidre, no moguće je da je došlo do horizontalnog prijenosa gena u ranoj evoluciji hidre od nekog fotosintetskog endosimbionta koji nije nužno morao biti *Chlorella.* Funkcija gena nije posve razjašnjena, no pretpostavlja se da ima ulogu u formaciji jajnika tako da održavajući redoks uvjete štiti jajne stanice od oksidacije i apoptoze (Habetha i Bosch, 2005).

U nepovoljnim uvjetima, može doći do promjene u simbiotskom odnosu. Istraživanje je pokazalo da nakon izlaganja štetnim kemijskim spojevima dolazi do širenja perialgalnog prostora, degradacije i gubitka simbiosoma te spajanja više perialgalnih prostora. S obzirom na to da se nakon oporavka ponovno uspostavlja simbiotski odnos, može se zaključiti da su zapažene pojave dio obrambenog sustava hidre (Kovačević i sur., 2007). Tijekom širenja perialgalnog prostora, endosimbiotske alge ulaze u perialgalne prostore drugih algi te tako udružuju snage kako bi sačuvale svoju strukturu i vijabilnost. Time se dokazuje da je *Chlorella* jači simbiotski partner jer može nadživjeti domaćina te pokazuje određenu neovisnost (Kovačević i sur., 2010).

3. 3. Endosimbioza puža *Elysia chlorotica* i kloroplasta alge *Vaucheria littorea*

Puzajući listovi, odnosno morski puževi koji fotosintetiziraju, dobili su naziv po kloroplastima algi s kojima žive u simbiotskom odnosu. Ono što je posebno u ovom odnosu jest činjenica da jednostanična alga nije smještena u zasebne simbiosome kao kod hidre, odnosno nije riječ o takvoj simbiozi između dva organizma. Radi se o specijalnom tipu endosimbioze tzv. kloroplastnoj simbiozi, odnosno kleptoplastiji gdje su plastidi "oteti" iz stanice algi te prebačeni u stanice domaćina (Rumpho i sur., 2000).

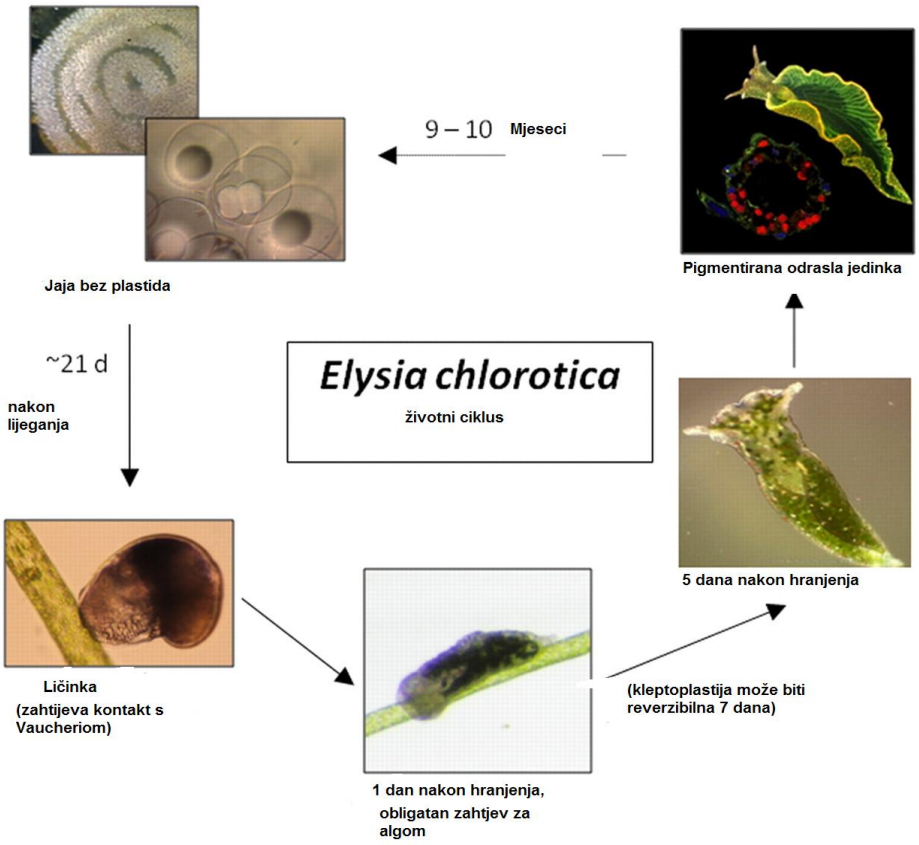
Većina morskih puževa koja formira ovaj oblik simbioze taksonomski pripada podrazredu Opistobranchia i redu Ascoglossa. Ulaze u simbiotski odnos kako bi zaštitili svoje mekano tijelo od predatora kamuflirajući se u okolišu. Puž *Elysia chlorotica* i alga *Vaucheria littorea* čine najdugotrajniji odnos u kojem su zadržani samo funkcionalni plastidi. Oni se nalaze u stanicama koje oblažu probavne divertikule puža te mogu ostati fotosintetski aktivni i više od devet mjeseci unatoč nedostatku algalne jezgre (Rumpho i sur., 2011).



Slika 6. *Elysia chlorotica* hrani se filamentima alge roda *Vaucheria* (lijevo) (www.nature.com)

Elysia se hrani filamentima sifonske, kromofitske alge roda *Vaucheria* (sl. 6) iz koje pomoću radule izvlači kloroplaste koje fagocitozom unosi u epitelne stanice koje oblažu divertikule probavnog sustava. Zanimljivo je to što strani plastidi nisu smješteni u zasebne vakuole već su omeđeni s dvije membrane gdje je vanjska membrana u direktnom kontaktu s citoplazmom domaćina (Rumpho i sur., 2000). "Zarobljeni" kloroplasti ostaju fotosintetski funkcionalni te se pomoću njih *Elysia* može održavati na životu i do devet mjeseci bez ikakvog izvora hrane, osim svjetlosti i ugljikovog dioksida (Pierce i sur., 1996). Morfologija puža važna je za održavanje ove simbioze. Naime, njegovi parapodiji su široki te izgledaju poput krila što omogućuje pravilno izlaganje sunčevoj svjetlosti koja je potrebna za funkcioniranje fotosinteze (Händeler i sur., 2009).

Plastidi se ne prenose na potomstvo te svaka nova generacija ponovno uspostavlja simbiozu. Uzgojem u laboratoriju prikazan je životni ciklus puža *Elysia* (sl. 7) koji je usko vezan za prisustvo alge. Ličinka se uspješno razvija ako se hrani s jednostaničnom algom *Isochrysis galbana*. Metamorfoza ličinke u juvenilni stadij uvjetovana je prisustvom filamenata alge *Vaucheria.* Odmah nakon metamorfoze, juvenilni oblici počinju se hraniti filamentima usisavajući plastide koji su potrebni za razvitak životinje u odrasli stadij (Rumpho i sur., 2011). Iz toga se može zaključiti da je ovaj simbiotski odnos obligatan jer su životni ciklus i metamorfoza puža usko vezani i ovise o prisutsvu alge. Zanimljiva su opažanja da odmah nakon produkcije jaja u rano proljeće, dolazi do masovnog umiranja jedinki, neovisno da li žive slobodno u prirodi ili su uzgojene u laboratoriju (Rumpho i sur., 2000).



Slika 7. Životni ciklus vrste *Elysia chlorotica*

Prilagođeno prema Rumpho i sur., 2011

Istraživanjem i analizom DNA vrste *Elysia* otkriveno je nekoliko plastidnih gena i kloroplastnih proteina koji su sintetizirani u stanicama domaćina (Mujer i sur., 1996; Pierce i sur., 1996). Većina tih proteina kodirana je genima iz algalne jezgre no nikakva jezgra ili nukuleomorf alge nisu pronađeni (Pierce i sur., 2003). Analizom DNA i mRNA iz odraslih jedinki i ličinki otkriveno je da se najmanje tri jezgrina gena alge *Vaucheria* nalaze u genomu puža. Geni su transkribirani i translatirani u stanice puža te time predstavljaju primjer horizontalnog prijenosa gena između dva višestanična organizma (Pierce i sur., 2007). Također, prisutnost tih gena u ličinkama potvrđuje da je došlo i do vertikalnog prijenosa gena na potomstvo prilikom čega njihova ekspresija ovisi o prvom kloroplastu kojeg svaka nova generacija juvenilnih puževa mora progutati. Mehanizam kojim dolazi do prijenosa gena još je nepoznat, međutim moguće je da za to odgovoran endogeni retrovirus koji je pronađen u svim odraslim stadijima vrste *Elysia chlorotica* koji su godinama prikupljani i testirani.

Također, retrovirus je odgovoran za simultanu smrt čitave populacije na kraju životnog ciklusa kada dolazi do njegove ekspresije (Pierce i sur., 2007). S obzirom na to da su retrovirusi vektori koji imaju sposobnost prijenosa i ugradnje gena iz jednog organizma u drugi, moguće je su oni prijenosni mehanizam gena iz alge u puža.

Vaucheria sadrži sekundarne plastide, odnosno plastide nastale sekundarnom endosimbiozom iz crvenih algi. Dok je unutar alge, organel je omeđen s četiri membrane: vanjskom i unutarnjom, periplastidnom membranom (ostatak plazma membrane progutane alge), vanjskom membranom endoplazmatkog retikuluma, međutim primijećeno je da dvije vanjske membrane nisu prisutne u stanicama puža (Bhattacharya i sur., 2004; Rumpho i sur., 2000). S obzirom na to da *Elysia* pribavlja sekundarne kloroplaste koji postaju organel njenih gastralnih stanica te da dolazi do horizontalnog prijenosa gena uz obligatni endosimbiotski odnos, neki autori smatraju da je ovaj odnos primjer tercijarne endosimbioze (Rumpho i sur., 2000, 2011).

3. 4. Endosimbioza zelene alge i embrija daždevnjaka vrste *Ambystoma maculatum*

Odnos između vrste pjegavog daždevnjaka (*Ambystoma maculatum*) i zelene alge (*Oophila amblystomatis*) otkriven je prije više od sto godina, no tadašnja istraživanja nisu dala pravi uvid u ovaj mutualistički odnos. Dugo se smatralo da se radi o ektosimbiozi, odnosno da simbiont živi izvan stanice domaćina. Međutim novija istraživanja pokazala su da ipak dolazi do invazije algalnih stanica u tkiva i stanice domaćina te da se radi o rijetkom primjeru endosimbioze između predstavnika kralješnjaka i algi (Kerney, 2011).



Slika 8. Embriji salamandera nalaze se unutar kapsule jaja okruženi algama (www.nature.com)

Ženke daždevnjaka, koji većinu života provodi pod zemljom, u proljeće izlaze na površinu te u plitkim lokvama odlažu stotine jajašaca. Jajašca su okružena višestrukim slojevima sluzavog matriksa koji ih štiti od patogena, predatora te ostalih mogućih kontaminata. Nekoliko sati nakon odlaganja, alge penetriraju kroz višeslojnu kapsulu te se nakupljaju kao ovalne stanice na unutarnjim membranama jajašaca okružujući embrije u razvoju (sl. 8). Također, dio algalnih stanica probija se kroz embrio u blizini blastopora te se naseljava unutar tkiva i stanica samog embrija (Kerney i sur., 2011). Većina autoflorescentnih algalnih stanica nestane u ličinačkom stadiju kada su apsorbirane od strane domaćina, međutim algalna 18S rRNA pronađena je u tkivima nekih odraslih jedinki i jajovodima što upućuje na mogućnost da neke stanice algi mogu opstati i kasnije (Kerney i sur., 2011). Neka istraživanja pokazala su da veća gustoća stanica zelene alge pozitivno utječe na rast i razvoj embrija (Graham i sur., 2013; Tattersall i Spiegelaar, 2008).

Povećana količina kisika koju proizvode alge utječe na rast i razvoj embrija. Osim toga, alge inhibiraju invaziju bakterija te tako dodatno štite embrije od patogena. Istraživanje je pokazalo da alga snabdijeva embrije produktima fotosinteze, no daljnja istraživanja moraju pokazati točno o kojim se produktima radi. Dokazano je da embriji koriste vezani ugljik iz fotosinteze, što je prvi slučaj translokacije ugljika u simbiozi algi i kralješnjaka (Graham i sur., 2013).

Iako se radi o mutualizmu, dobrobit koju alge primaju iz ovog odnosa još je nedovoljno istražena. Smatra se da alge koriste dušični otpad embrija. Problem je neriješena taksonomija ove alge koja nije pronađena izvan jaja daždevnjaka. Osim toga, pokušaji kultivacije u laboratoriju završili su neuspješno te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se odredila njena filogenija i jasna uloga u ovom odnosu. Jedna

od hipoteza je da intracelularnom invazijom embrija alga pokušava vertikalno prenijeti gene s jedne na drugu generaciju. Primijećeno je da je rast algi minimalan nakon što su embriji odstranjeni (Kerney, 2011; Kerney i sur., 2011)

4. Zaključak

Endosimbiotski odnosi imali su veliku ulogu u evoluciji iz prokariotske u eukariotsku stanicu. Osim toga, serijske endosimbioze uzrokovale su i raznolikost svijeta algi što je vidljivo po primarnim, sekundarnim ili pak tercijarnim plastidima. Unatoč tome što se smatralo da fotosintetske simbioze u životinjama mogu opstati u morfološki jednostavnijim organizmima kao što su spužve i žarnjaci, rodovi *Elysia* i *Ambystoma* pokazuju kako je takav odnos moguć i u kompleksnijim organizmima. Moguće je da manjak istraživanja uzrokuje nedostatak primjera endosimbioze u evolucijski razvijenim životinjama te da će se daljnjim istraživanjima otkriti još sličnih primjera.

Iz primjera hidre, puža i daždevnjaka može se zaključiti da im endosimbiotski odnos s algama daje svojevrsnu prednost u okolišu. Simbiotska hidra i simbiotski puž mogu preživjeti u uvjetima bez izvora hrane, a alge osiguravaju rast i zaštitu embrija daždevnjaka. Osim toga, teorija simbiogeneze govori da spajanjem dvaju različitih organizama nastaje novi. Ako uzmemo u obzir horizontalni prijenos gena koji je otkriven kod hidre i puža, možemo govoriti o procesu simbiogeneze jer se radi o smjeru obligatnog odnosa koji je potreban za život organizama i koji mu daje adaptacijsku prednost. S obzirom na navedeno, simbiotski odnosi su ključni čimbenici bioraznolikosti.

5. Literatura

Allemand, D., Furla, P., Bénazet-Tambutté, S. (1998). Mechanisms of carbon acquisition for endosymbiont photosynthesis in Anthozoa. Can. J. Bot. *76*, 925–941.

Baghdasarian, G., Muscatine, L. (2000). Preferential expulsion of dividing algal cells as a mechanism for regulating algal-cnidarian symbiosis. Biol. Bull. *199*, 278–286.

Bhattacharya, D., Yoon, H.S., Hackett, J.D. (2004). Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. BioEssays *26*, 50–60.

Brown, B.E. (1997). Coral bleaching: causes and consequences. Coral Reefs *16*, S129–S138.

Cernichiari, E., Muscatine, L., Smith, D.C. (1969). Maltose Excretion by the Symbiotic Algae of *Hydra viridis*. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. *173*, 557–576.

Crnek-Kunstelj, V., Bulić-Jakuš, F., Jovanov, N., Klepac, R., Pećina-Šlaus, N., Šerman, D., Šerman, Lj., Vlahović, M. (2003). Medicinska biologija. (Sveučilište u Zagrebu, Zagreb).

Douglas, A., Smith, D.C. (1984). The Green Hydra Symbiosis. VIII. Mechanisms in Symbiont Regulation. R. Soc. Lond. Proc. Ser. B *221*, 291–319.

Dunn, K. (1987). Growth of endosymbiotic algae in the green hydra, *Hydra viridissima.* J. Cell Sci. *88*, 571–578.

Graham, E.R., Fay, S.A., Davey, A., Sanders, R.W. (2013). Intracapsular algae provide fixed carbon to developing embryos of the salamander *Ambystoma maculatum*. J. Exp. Biol. *216*, 452–459.

Habetha, M., Bosch, T.C.G. (2005). Symbiotic Hydra express a plant-like peroxidase gene during oogenesis. J. Exp. Biol. *208*, 2157–2165.

Habetha, M., Anton-Erxleben, F., Neumann, K., Bosch, T.C.G. (2003). *The Hydra viridis/Chlorella* symbiosis. Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts. Zool. Jena Ger. *106*, 101–108.

Händeler, K., Grzymbowski, Y.P., Krug, P.J., Wägele, H. (2009). Functional chloroplasts in metazoan cells - a unique evolutionary strategy in animal life. Front. Zool. *6*, 28.

Kawaida, H., Ohba, K., Koutake, Y., Shimizu, H., Tachida, H., Kobayakawa, Y. (2013). Symbiosis between hydra and chlorella: Molecular phylogenetic analysis and experimental study provide insight into its origin and evolution. Mol. Phylogenet. Evol. *66*, 906–914.

Keeling, P.J. (2004). Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. Am. J. Bot. *91*, 1481–1493.

Kerney, R. (2011). Symbioses between salamander embryos and green algae. Symbiosis *54*, 107–117.

Kerney, R., Kim, E., Hangarter, R.P., Heiss, A.A., Bishop, C.D., Brian Hall K. (2011). Intracellular invasion of green algae in a salamander host. Proc. Natl. Acad. Sci.

Kovačević, G. (2012). Value of the Hydra model system for studying symbiosis. Int. J. Dev. Biol. *56*, 627–635.

Kovačević, G., Kalafatić, M., Ljubešić, N. (2007). New observations on green hydra symbiosis. Folia Biol. (Praha) *55*, 77–79.

Kovačević, G., Franjević, D., Jelenčić, B., Kalafatić, M. (2010). Isolation and cultivation of endosymbiotic algae from green hydra and phylogenetic analysis of 18S rDNA sequences. Folia Biol. (Praha) *58*, 135–143.

Kozo-Polyanski, B.M., (ur. Margulis, L., Feet, V.) (2010). Symbiogenesis: a new principle of evolution (Cambridge, Mass.: Harvard University Press).

Margulis, L. (1970). Origin of eukaryotic cells; evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian earth. (New Haven: Yale University Press).

McFadden, G.I. (2001). Primary and Secondary Endosymbiosis and the Origin of Plastids. J. Phycol. *37*, 951–959.

Mujer, C.V., Andrews, D.L., Manhart, J.R., Pierce, S.K., Rumpho, M.E. (1996). Chloroplast genes are expressed during intracellular symbiotic association of *Vaucheria litorea* plastids with the sea slug *Elysia chlorotica*. Proc. Natl. Acad. Sci. *93*, 12333–12338.

Pierce S., Biron R., Rumpho M. (1996). Endosymbiotic chloroplasts in molluscan cells contain proteins synthesized after plastid capture. J. Exp. Biol. *199*, 2323–2330.

Pierce, S.K., Massey, S.E., Hanten, J.J., Curtis, N.E. (2003). Horizontal Transfer of Functional Nuclear Genes Between Multicellular Organisms. Biol. Bull. *204*, 237–240.

Pierce, S.K., Curtis, N.E., Hanten, J.J., Boerner, S.L., Schwartz, J.A. (2007). Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species. Symbiosis Rehovot *43*, 57–64.

Rahat, M., and Reich, V. (1986). Algal endosymbiosis in brown hydra: host/symbiont specificity. J. Cell Sci. *86*, 273–286.

Rumpho, M.E., Summer, E.J., Manhart, J.R. (2000). Solar-Powered Sea Slugs. Mollusc/Algal Chloroplast Symbiosis. Plant Physiol. *123*, 29–38.

Rumpho, M.E., Pelletreau, K.N., Moustafa, A., Bhattacharya, D. (2011). The making of a photosynthetic animal. J. Exp. Biol. *214*, 303–311.

Tattersall, G.J., Spiegelaar, N. (2008). Embryonic motility and hatching success of Ambystoma maculatum are influenced by a symbiotic alga.(Report). Can. J. Zool. *86,* 1289-1298.

Venn, A.A., Loram, J.E., Douglas, A.E. (2008). Photosynthetic symbioses in animals. J. Exp. Bot. *59*, 1069–1080.

Weis, V.M., Davy, S.K., Hoegh-Guldberg, O., Rodriguez-Lanetty, M., Pringle, J.R. (2008). Cell biology in model systems as the key to understanding corals. Trends Ecol. Evol. *23*, 369–376.

Witzany, G. (2006). Serial Endosymbiotic Theory (Set): The Biosemiotic Update. Acta Biotheor. *54*, 103–117.

Yellowlees, D., Rees, T.A.V., Leggat, W. (2008). Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. Plant Cell Environ. *31*, 679–694.

www.ib.bioninja.com.au

www.bioimages.org.uk

www.botany.natur.cuni.cz

www.nature.com

6. Sažetak

Endosimbioza ima važnu ulogu u postanku i evoluciji eukariotske stanice. Različiti plastidi nastali su nizom endosimbiotskih odnosa te uzrokovali raznolikost u svijetu algi. Endosimbioza hidre i *Chlorelle* predstavlja tipičan primjer dugotrajanog mutualističkog odnosa u kojem oba organizma imaju koristi. S druge strane, *Elysia* i *Ambystoma* pripadaju novootkrivenim nespecifičnim simbiozama. Fotosintetske simbioze osiguravaju organizmima svojevrsnu prednost jer mogu preživjeti u uvjetima bez hrane. Moguće je da ovakvi odnosi postoje u puno više organizama nego što je zabilježeno te su potrebna daljnja istraživanja koja će dati odgovore na neka, još otvorena pitanja te pružiti uvid u bioraznolikost koju osiguravaju ovi odnosi.

7. Summary

Endosymbiotic relationships play an important role in the origin and evolution series of endosymbiotic events. Endosymbiosis between hydra and *Chlorella* represents a long-term mutualistic relationship in which both organisms benefit from each other. On the other hand, *Elysia* and *Ambystoma* are examples of the unusual symbioses, waiting yet to be fully understood. Associations with photosynthetic organisms provide an advatange to a host because it can survive in conditions without food. It is possible that these relationships exist in more organisms then that were observed so far. Further research is needed to provide the answers and give insight into the biodiversity that is shaped by symbiotic relationships.