

Holobiont

Matković, Maja

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:621324>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Maja Matković

Holobiont

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Maja Matković

Holobiont

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj rad izrađen je u sklopu studijskog programa Znanosti o okolišu na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Gorana Kovačevića.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Holobiont

Maja Matković

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pojam holobiont odnosi se na jedinku domaćina i pripadajuću mikrobnu zajednicu koji zajedno čine selekcijsku jedinicu. Nastaje procesom simbiogeneze i dalje podliježe evolucijskim procesima. Razlike u mikrobiomu mogle bi biti važan čimbenik u reproduktivnoj izolaciji i specijaciji. Neki od najpoznatijih primjera holobionta su čovjek, koralji i hidra, a u ovom radu od interesa je govoriti o primjeru koralja, biljaka i komaraca kao primjerima holobionta. Postoji veza između pojedine endosimbioze i cirkadijalnog sata. Stres je reakcija organizma na štetne agense iz okoliša (stresori) koji djeluju na strukturu ili funkciju organizma. Biljke, s obzirom na ograničenu mogućnost kretanja, razvijaju sustave odgovora na stresore, uključujući i sintezu hormona etilena koji pokazuje pleiotropni učinak na fenotip. Brža adaptacija okolišu također donosi evolucijsku prednost. Proučavanjem holobionta možemo izvesti nove zaključke o biologiji i ekologiji organizama i to naposljetku može imati i praktičnu primjenu, primjerice u biološkoj kontroli populacija komaraca i prevenciji širenja tropskih zaraznih bolesti.

Ključne riječi: evolucijska prednost, prilagodba okolišu, jedinica selekcije, simbioza, koralji, biljke, komarci

(19 stranica, 4 slike, 18 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Goran Kovačević

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Holobiont

Maja Matković

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Holobiont refers to a host organism and its microbial community and they together form one selection unit. Holobiont is formed via symbiogenesis and further evolves as a unit. Microbiome differences could be an important factor in reproductive isolation and speciation. Well-known examples are human holobiont, corals and hydra, and herein the interest focuses on the examples of corals, plants and mosquitoes. There is a connection between endosymbiosis and circadian rhythm. Stress is a reaction of an organism to any harmful agent from the environment (stressor) which affects its structure or function. Since plants have limited movement possibilities, they develop multiple stress-response mechanisms including hormone ethylene synthesis, which displays pleiotropy in plant phenotype. Faster adaptation also leads to an evolutionary advantage. Further studies on holobiont could bring us new conclusions on biology and ecology of particular organisms of interest and that could also bring a practical use, e.g. this concept is used in mosquito population biological control and tropical infectious diseases prevention.

Keywords: evolutionary advantage, environmental adaptation, selection unit, symbiosis, corals, plants, mosquitoes

(19 pages, 4 figures, 18 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

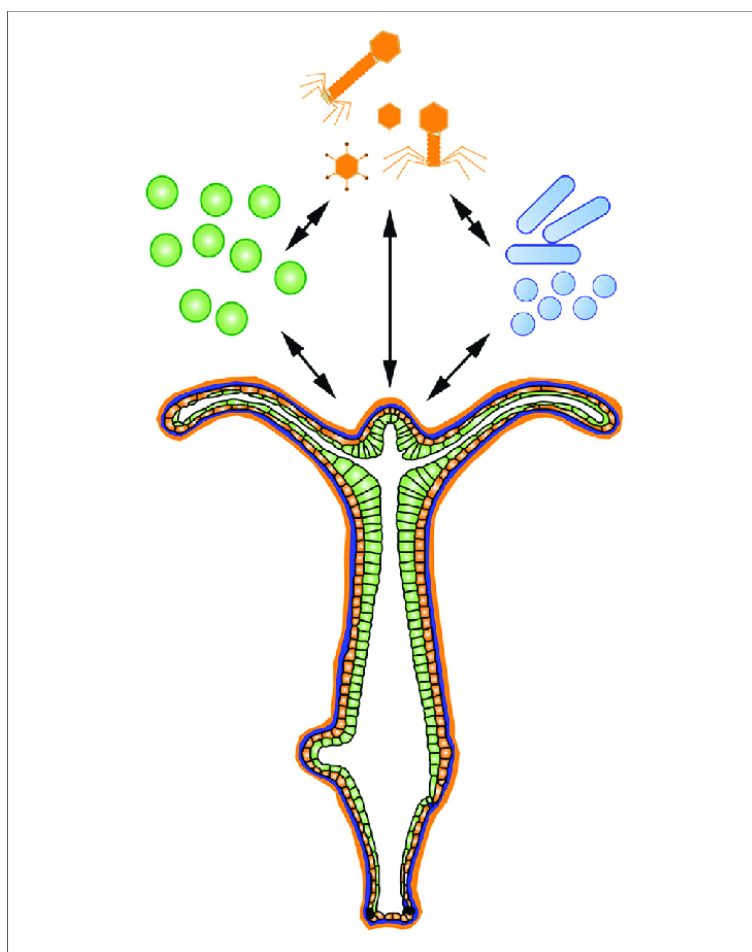
Mentor: prof. dr. sc. Goran Kovačević

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. Uvod | 1 |
| 1.1. Cirkadijalni sat i holobiont..... | 4 |
| 2. Biljni holobiont..... | 5 |
| 2.1. Okolišni stres u biljaka | 5 |
| 2.2. Uloga etilena u odgovoru biljaka na stresore | 5 |
| 2.3. Utjecaj mikrobioma na obranu od stresa u biljaka | 8 |
| 2.4. Biljni holobiont i koevolucija | 8 |
| 3. Komarac kao holobiont..... | 9 |
| 3.1. Simbioza kao evolucijsko oružje | 9 |
| 3.2. Komarac holobiont | 11 |
| 4. Zaključak | 14 |
| 5. Literatura | 16 |
| 6. Životopis..... | 18 |

1. Uvod

Holobiont (grč. hólos – cijeli, sav, ispunjen) obuhvaća jedinku domaćina i njezinu mikrobnu zajednicu. Taj zaseban ekosustav koji se sastoji od jedinke domaćina i pripadajućih mikroorganizama možemo sagledati kao autonomnu selekcijsku evolucijsku jedinicu. Holobiont je simbiotski, mutualistički odnos objedinjen u jednu cjelinu. Jedan od najpoznatijih i najviše istraživanih primjera je čovjek. Mikrobne zajednice koje možemo pronaći na i u našem tijelu razlikuju se po ishrani, funkcijama koje obavljaju i samoj lokaciji gdje ih možemo pronaći. Različiti dijelovi tijela čovjeka uza sebe vežu različite životne uvjete. Govorimo o milijardama mikroorganizama koje zatim možemo grupirati prema mikrokolišu u kojem žive. Pa tako govorimo o mikrobiomu kože, urogenitalnom mikrobiomu, intestinalnom mikrobiomu, mikrobiomu usne šupljine. Jedan dobar primjer modelnih organizama pri proučavanju simbioze, endosimbioze i principa holobionta je zelena hidra (*Hydra viridissima* Pallas, 1766). Holobiont hidre sastoji se od životinjskog domaćina i njenih pripadajućih jednostaničnih endosimbiotski mikroalgi i ektosimbiotskih bakterija (Slika 1.).



Slika 1: Shematski prikaz hidre kao holobionta. Izvor: https://www.researchgate.net/figure/The-Hydra-Holobiont-Hydra-are-an-ideal-system-to-deconstruct-and-reconstruct-an_fig2_320948904

Razlikujemo simbiotske, aposimbiotske i nesimbiotske hidre. Simbioza se u određenim okolišnim uvjetima pokazala kao preferabilna varijanta. Svaku endosimbiotsku mikroalgu unutar gastrodermalne mioepitelne stanice hidre nalazimo unutar strukture koju nazivamo simbiosom, vakuole okružene perialgalnim prostorom (Douglas, 1994). Hidre imaju svoj specifičan mikrobiom kojeg aktivno bira i formira epitel (npr. mikrobiom vrste *Hydra vulgaris* sastoji se od 75% bakterija roda *Curvibacter*). Danas ovdje razlikujemo oko 350 pripadajućih mikrobnih vrsta. Organizmi nisu sami po sebi spremni za endosimbiotski odnos te takva vrsta suživota zahtijeva dugotrajan proces prilagodbe. Koralji su također jedan od često istraživanih primjera holobionta. Sve većim opažanjem procesa izbjeljivanja koralja pojačano su istraživani ekosustavi koraljnih grebena, njihovi koralji i endosimbiotski odnosi koje uspostavljaju s mikroalgama. Endosimbiotske alge koralja pojačano ugibaju zbog sve većih promjena uvjeta okoliša. To su primarno promjene temperature vode, ali i druge fizikalne i kemijske promjene, kojima se koralji ne mogu tako brzo prilagoditi. Bez fotosintenteze svojih eukariotskih endosimbionata koralji izbjeljuju i naposljetku ugibaju. Kako bi se ovi ekosustavi očuvali, vode se razna istraživanja koja nam daju i sve veći uvid u funkcioniranje holobionta kao jedinke. Tako je uzet primjer cirkadijalnog sata žarnjaka sa stajališta holobionta. Simbionti su u konstantnoj interakciji i uvelike utječu jedan na drugoga. Na primjeru odgovora biljaka na stres, biosintetskim putem etilena sagledava se utjecaj mikrobioma na biljnog domaćina te kakve posljedice naposljetku ova endosimbioza donosi jedinci na razini holobionta. Princip holobionta iskoristio se i praktično, kao temelj u biološkoj kontroli populacija komaraca. Simbionti su evolucijski odvojene i nezavisne linije, a zajedno tvore novu liniju, stječu nove osobine ili funkcije kao direktnu posljedicu simbioze. Formira se i aktivno odvija proces simbiogeneze, kao pojave novih metaboličkih puteva, ponašanja ili nekih drugih prepoznatljivih evolucijskih noviteta. Krajnji rezultat su evolucijske inovacije i specijacije. Na taj način može nastati snažnija evolucijska jedinica koja se lakše prilagođava. Promjene u okolišu izravno utječu na organizme koji u njemu žive. Holobiont u tom slučaju ostvaruje dodatnu prednost. Može ući u simbiozu s nekim novim organizmom koji je bolje prilagođen novonastalim uvjetima ili pak može promijeniti brojnosti svojih mikroorganizama. Tako na

primjer hidra može inhibirati mitozu, izbacivati endosimbionte iz stanice ili probaviti višak algi. Simbiotski odnosi proširuju limitirane metaboličke puteve u eukariota prokariotskim metaboličkim kapacitetom, npr. metanogenezom, hemolitoautotrofijom, fiksacijom dušika i biosintezom esencijalnih nutrijenata (Engel i sur., 2013). Organizam koji se brže i jednostavnije prilagođava lakše se prehranjuje te ima veći stupanj reprodukcije čime ostvaruje evolucijsku prednost. Pri istraživanju blisko srodnih vrsta uočava se sličnost u mikrobiomu. Što su vrste u bližem srodstvu, to im je mikrobiom sličniji. Geni domaćina brže se razvijaju uz pomoć mikrobnih simbiota i kao zajednička grupa gena uključeni su u inkompatibilnost razmnožavanja hibrida (Guerrero i sur., 2013). Čini se da postoji kritičan period razvoja u kojem mikrobiom utječe na veze centralnog živčanog sustava koje povezujemo s ponašanjem pri stresu (Rosenberg i Zilber-Rosenberg, 2013). Specifične bakterije roda *Lactobacillus* kod miševa reguliraju emocionalno ponašanje (Bravo i sur., 2011). Zatim, pri formiranju anteriorno-posteriorne osi u nematoda veliku ulogu igraju bakterije roda *Wolbachia*. Eliminiranjem ovih bakterija iz jaja, anteriorno-posteriorna polarnost ne razvija se pravilno (Bosch i Miller, 2016). Dokazano je da se mikrobiom prenosi s roditelja na potomka mnogim mehanizmima koji osiguravaju očuvanje svakog jedinstvenog hologenoma (Rosenberg i Zilber-Rosenberg, 2013). Organizmi s većom stopom reprodukcije prenose svoje gene na potomstvo, i u ovom slučaju mikroorganizme unutar sebe, i time zauzimaju sve veći postotak u populaciji. Geni domaćina i geni njegovog mikrosvijeta zajedničkim snagama imaju veću mogućnost prilagodbe na okoliš čime ostvaruju veću mogućnost preživljavanja i očuvanja vrste. Genom holobionta naziva se hologenom, a sastoji se od genoma domaćina i genoma njegovih mikroorganizama, mikrobioma. Na primjer, ljudski genom sadrži oko 20 000 gena, no njegov hologenom obuhvaća više od 33 milijuna gena zahvaljujući svom mikrobiomu (Simon i sur., 2019). Pojam hologenoma proizlazi iz hologenomske teorije evolucije koja se bazira na četiri osnovne pretpostavke: (1) simbioza je svojstvena svim biljkama i životinjama; (2) simbiotski odnosi s mikroorganizmima preferirani su i prenose se na potomstvo; (3) stopa preživljavanja holobionta kao jedinke je povećana uz pomoć endosimbiotskih odnosa koje eukariotska jedinka uspostavlja s mikroorganizmima; (4) promjene u hologenomu uzrok su promjena unutar genoma simbiota. Važno je pritom uzeti u obzir da se otvara mogućnost ne samo za vertikalni već i za horizontalni prijenos gena. Također, valja uzeti u obzir i istraživanja koja povezuju mikrobiotu, mikrobiom, mentalno zdravlje i ponašanje (Foster i

2013, Heijtz i sur., 2011).

1.1. Cirkadijalni sat i holobiont

Svaki organizam prilagođava svoj ritam života prema određenom unutarnjem satu koji kontrolira njegove unutarnje procese, potrebe i ponašanje. Cirkadijalni sat, i njegov ritam, je unutarnji biološki sat koji određuje i prilagođava fiziološke procese unutar organizama. Obično prati pojavni ritam unutar 24 h kod većine životinja na sličan biološki način. Centralni sat koji organizira fiziološke procese preko autonomnog živčanog sustava nalazi se u suprahijazmatskoj jezgri (SCN, eng. Suprachiasmatic nucleus). U ljudi, ona se nalazi u hipotalamusu. Sve ostale stanice organizma povezane su sa središnjim satom preko perifernih centara. Ulazni signal koji pokreće središnji cirkadijalni sat je svjetlost. U kaskadi reakcija i signala komunikacije centralnog i perifernog sustava sudjeluje niz hormona, kemijskih signala i drugih metabolita. Periferni sustav nije samo pod utjecajem centralnih signala već i pod utjecajem okolišnih čimbenika, kao i vlastitim autonomnim ritmovima kontrole metabolizma.

Kao jedan od modelnih organizama za istraživanje gena koji sudjeluju u funkcioniranju cirkadijalnog sata u žarnjaka poslužila je vrsta *Favia* sp., pri čemu su praćeni dinamika pružanja lovki i embriogeneza, u kratkom i duljem vremenskom periodu. U uvjetima osvjetljenja razlikuju se ponavljajuće pravilnosti u oscilaciji aktivnosti pojedinih gena, što se jasno može dovesti u vezu sa određenim dobom dana, tj. s količinom ulazne svjetlosti (npr. vrijeme izlaska i zalaska Sunca, minimum i maksimum osvjetljenja). Koralji pokazuju periodičke oscilacije dnevnog ritma ponašanja u periodima od mjesec dana, 24 h ili 12 h, koje pokreće svjetlost kao ulazni signal. Tako pružanje lovki, ili na primjer ispuštanje gameta, ima svoj vlastiti ciklički pojavni ritam. U jednom primjeru, mjerenja razine kisika u simbiotskih jedinki prate fotosintezu te je razina kisika s time u skladu pri najvećem osvjetljenju maksimalna dok je minimalna u uvjetima maksimalne tame. Kada su asimbiotski oblici *Aiptasia* sp. ponovno zaraženi kladom B roda *Symbiodinium*, periodičnost inokuliranih moruzgvi porasla je ca. 24.4 h. Suprotno, izbijeljene, vratile su se ciklusima ca. 12 h (Sorek i sur., 2018). Ova vrsta razlikuje dva različita unutarnja sata. Zanimljivo je kako simbiotski odnos unutar holobionta može imati značajan utjecaj na život

holobionta, uključujući i njegov cirkadijalni sat.

2. Biljni holobiont

2.1. Okolišni stres u biljaka

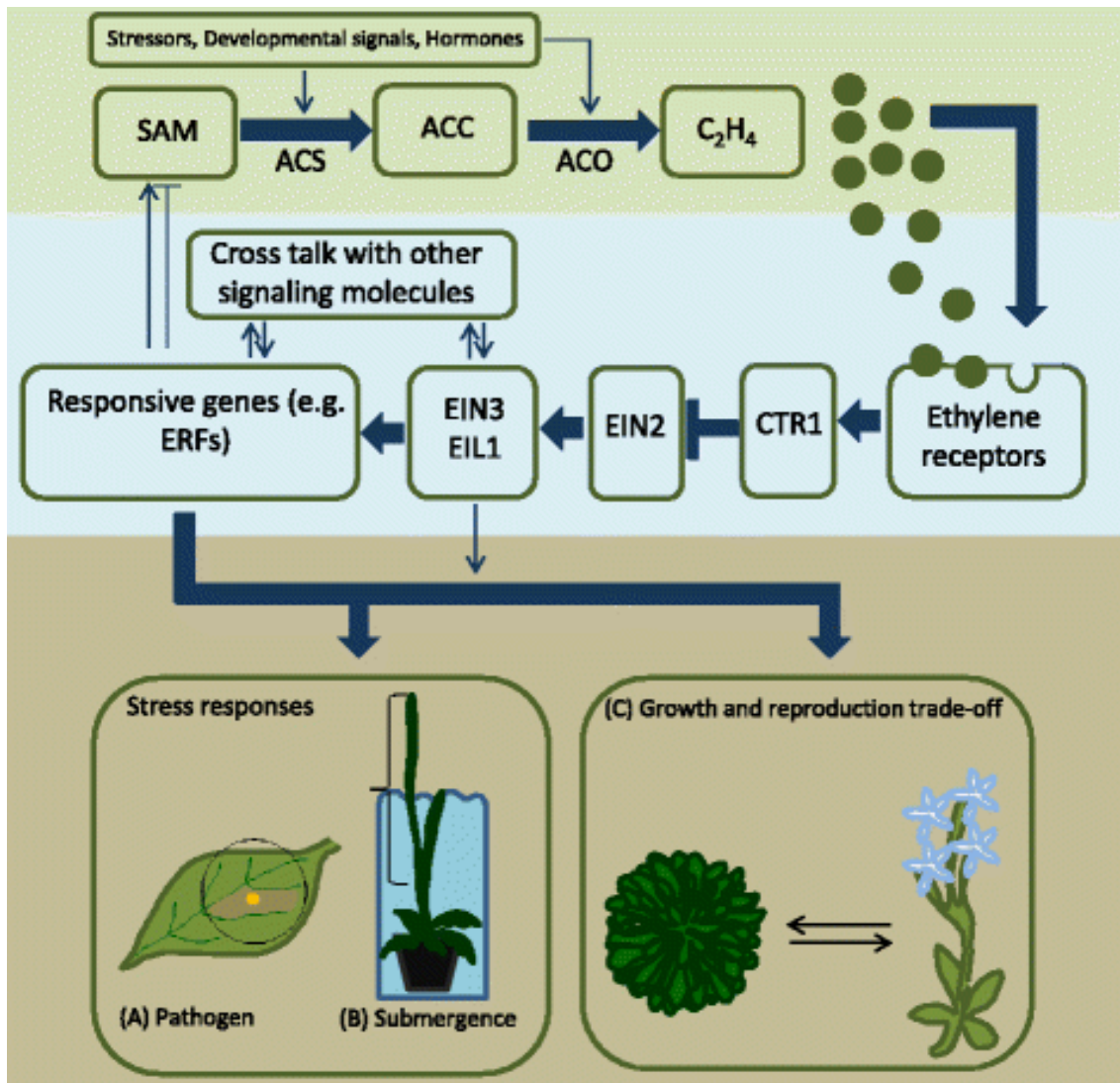
Svaka značajna promjena vanjskih uvjeta okoliša (npr. promjena temperature) biljkama predstavlja određeni stres. Stres je reakcija organizma na štetne agense iz okoliša (<https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=58387>). Biljka mora što prije uspješno odgovoriti na novonastale uvjete prikladnom prilagodbom kako bi zadržala svoj fitnes i opstala. Pritom stres koji doživljava može biti akutan, kao u slučaju klimatskih ekstrema, ili stalan, onaj koji se očituje u kontinuiranim, dugotrajnim promjenama određenog parametra uvjeta okoliša. S obzirom da se intenzitet i trajanje stresa razlikuju, tako i odgovori na stres u biljaka izrazito variraju. Postoji cijeli raspon fizioloških i morfološko-anatomskih odgovora na stres koji biljkama omogućavaju da se prilagode u točno određenoj mjeri, koliko je potrebno kako bi se što brže prilagodile novonastalim uvjetima okoliša i dostigle svoj ekološki optimum. Naime, kako bi došlo do što bržeg odgovora, biljke većinu svojih resursa usmjeravaju prema obrani od stresa i njegovih štetnih utjecaja na fenotip pod cijenu vlastitog daljnjeg rasta i razvoja. Biljka reagira određenom fizičkom ili fiziološkom adaptacijom te time neminovno višestruko utječe na sve svoje ostale biološke puteve i procese.

2.2. Uloga etilena u odgovoru biljaka na stresore

Hormoni kao etilen, auksin i jasmonska kiselina svojom međusobnom interakcijom sudjeluju u oblikovanju relativnog ulaganja biljaka u rast, reprodukciju i obranu od stresa (Ravanbakhsh i sur., 2018.). Koncentracija hormona ovisi o samoj biljci kao i njenom mikrobiomu. Etilen je hormon koji utječe na razne aspekte rasta i razvoja biljaka. Važan je hormon u regulaciji odgovora biljaka na stres i njegovu toleranciju. Prilikom povećanog stresa povećava se i koncentracija etilena. Povećanje koncentracije djeluje kao pokretački signal u adaptivnoj povratnoj reakciji biljke i sudjeluje u regulaciji mnogih drugih

metaboličkih puteva. Prisutnost etilena ima višestruke učinke na fenotip biljaka. Pleiotropni učinak posebice se primjećuje u slučaju dugotrajnog povećanja koncentracije gdje osim ciljanog odgovora opažamo istovremeno i inhibiciju daljnjega rasta jedinke, kao i na primjer, odgađanje cvjetanja.

Sinteza etilena kreće sintezom prekursora ACC (1-aminociklopropan-1-karboksilna kiselina) koju katalizira enzim ACC sintaza (ACS). Prilikom detekcije određenog stresora pokreće se sinteza ACS koji zatim aktivira sintezu ACC prekursora. Enzim ACC oksidaza zatim prevodi ACC prekursor u etilen. Vežanjem etilena na receptore aktivira se lančana reakcija daljnje ekspresije transkripcijskih faktora EIN2, EIN3 i EIL1. Ukoliko nema prisutnog etilena, nema aktivacije receptora i time daljnje aktivacije pozitivnog regulatora EIN2. U tom slučaju aktivira se negativni regulator CTR1 koji zatim inhibira aktivaciju ostalih transkripcijskih faktora. Shema navedenih kaskadnih reakcija prikazana je na Slici 2. Transkripcijski faktori osjetljivi na etilen sudjeluju u različitim fiziološkim putevima u biljaka, kao na primjer, pri aktivaciji imuniteta ili u modifikacijama aktivnosti enzima u uvjetima povećanog saliniteta ili povećane koncentracije teških metala. Ovakav sustav predstavlja funkciju tipa stresa i njegovog intenziteta te je upravo zato iznimno varijabilan. Pokazao se kao posebno koristan u obrani biljaka od sušnih perioda, pri povećanju koncentracije teških metala i saliniteta u tlu.



Slika 2: Shema sinteze etilena, njegove pozitivne i negativne regulacije te odgovora biljke promjenom u fenotipu. (A) stresor – patogen: prilikom infekcije patogenom etilen koordinira odgovor biljke (npr. brzo, lokalizirano odumiranje stanica u dodiru s patogenom) kako bi se spriječilo širenje infekcije. (B) stresor – nedostatak kisika uslijed poplave: akumulacija etilena aktivira ubrzan rast izdanaka u smjeru kontakta sa zrakom. (C) ravnoteža između ulaganja u rast ili razmnožavanje: visoke koncentracije etilena prebacuju ravnotežu prema razmnožavanju i nastanku sjemenki koje lakše preživljavaju nepovoljne uvjete okoliša. SAM S-adenozilmetionin, ACC 1-aminociklopropan-1-karboksilna kiselina, ACS ACC sintaza, ACO ACC oksidaza, C₂H₄ hormon etilen, CTR1 negativni regulator, EIN2 protein 2 neosjetljiv na etilen, EIN3 protein 3 neosjetljiv na etilen, EIL1 protein neosjetljiv na etilen, ERFs faktori odgovora na etilen (Ravanbakhsh i sur., 2018)

2.3. Utjecaj mikrobioma na obranu od stresa u biljaka

Mikrobiom biljaka ne igra veliku ulogu samo u imunološkom sustavu, hormonskoj regulaciji, ravnoteži i metabolizmu, već ima značajnu ulogu i u obrani od stresa. Primjerice, prilikom suša može doći do sinteze određenih spojeva koji pomažu u zaštiti biljke od isušivanja. Također, mogu biti korisni u zaštiti od zagađenja razlažući organske polutante na manje, malo toksične spojeve. Isto tako postoji nekoliko načina na koji mikrobiom utječe na hormonske razine biljaka, pa tako i u slučaju etilena.

2.4. Biljni holobiont i koevolucija

Biljni organizam i njegovu mikrobiotu smatrat ćemo zasebnom evolucijskom jedinicom, holobiontom. Pri tome fiziologija organizma nije uvjetovana samo genomom biljke već i genomom njene mikrobiote. Na taj način, nastankom hologenoma, povećava se genska zaliha jedinice koja kao rezultat ima povećanu fenotipsku plastičnost u odgovoru na doživljeni stres. Pritom mikrobiota može direktno utjecati na stresore, može utjecati na koncentraciju etilena, ili može doći do određenog fiziološkog odgovora na sam spoj. Povećanje koncentracije odvija se direktnom sintezom etilena mikrobiote ili utjecajem na povećanje aktivnosti enzima ACS kod biljnog domaćina. Direktna sinteza etilena je otkrivena u bakterije *Ralstonia* sp. Iako je direktna sinteza većinom istraživana na patogenima, svojstvena je i mnogim drugim mikroorganizmima, među kojima je oko trećina sojeva koje nalazimo u tlu. Pritom postoji mnogo različitih biosintetskih puteva etilena koji se javljaju u različitim vrsta i rodova te se dalje prenose horizontalnim prijenosom gena između bakterija. Utjecaj na fenotip primjećujemo u ubrzavanju zrenja. Mikrobne populacije rizosfere mogu povećati koncentraciju etilena indirektno. Pritom dolazi do lučenja auksina i citokinina, hormona koji povećavaju ekspresiju gena koji kodiraju za enzim ACS. S druge strane, određeni mikroorganizmi mogu smanjiti koncentraciju etilena u biljci. Smanjenje koncentracije etilena neće u svakom slučaju, i kod svake vrste, imati pozitivan učinak kako se možda može naprečac zaključiti. Naime, smanjenje koncentracije etilena bazira se na sintezi ACC deaminaze, enzima koji razlaže ACC. Ovaj enzim možemo naći u velikog broja gljiva i različitih mikroorganizama. Kakav će biti krajnji utjecaj na fenotip jedinice ovisi o genomu biljke i okolišu u kojem se nalazi.

Koevolucija biljaka i mikroorganizama koji mogu direktno povećati koncentraciju etilena za rezultat ima smanjenu produkciju etilena biljke kako bi se održala homeostaza. Tako dugoročno biljka sve više smanjuje mogućnost produkcije etilena. Biljna jedinka tako sama za sebe postaje visoko osjetljiva na stres i postaje sve više ovisna o svojem mikrobiomu kako bi opstala. U slučaju širokog rasprostiranja dolazi klijanja sjemenke na nekom potpuno novom području s potpuno drugačijim uvjetima. Biljka se onda nalazi u kontaktu s potpuno drugačijim zajednicama mikroorganizama. Ovisna o mikrobiomu roditeljske generacije, ne može se adekvatno prilagoditi novonastalim uvjetima i prijeti joj opasnost od ugibanja. One jedinke koje uspostave potrebnu endosimbiozu mogle bi imati određenu evolucijsku prednost. Etilen u biljnom organizmu signalizira potrebu za prilagodbom pod pritiskom stresora. Prilagodbe u biljaka prenose se vertikalno, s generacije na generaciju, i pritom usavršavaju. Mikroorganizmi imaju znatno kraće generacijsko vrijeme što znači da svoje korisne mutacije puno brže prenose, vertikalno i horizontalno, integriraju ih u populaciju, donoseći holobiontu prednost u prirodnoj selekciji. Koevolucija biljnih vrsta i mikroorganizama koji imaju mogućnost redukcije koncentracije etilena ide u smjeru sve veće produkcije ACC prekursora kako bi se nadomjestio nastali gubitak.





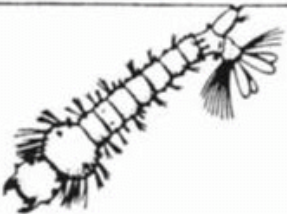

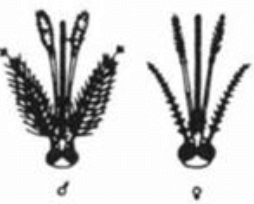
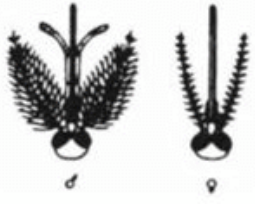
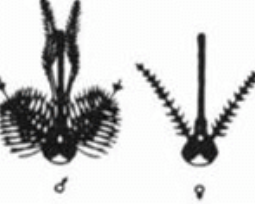
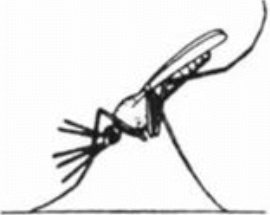


Mikroorganizmi holobionta aktivno sudjeluju u podešavanju odgovora jedinke na stresor. Prilagodbom na nove životne uvjete holobiont ima mogućnost osvajanja novih areala u kojima do sad život nije bio moguć. Koevolucija unutar holobionta otvara biljnim vrstama mogućnost zauzimanja novih ekoloških niša.

3. Komarac kao holobiont

3.1. Simbioza kao evolucijsko oružje

Istraživanjem simbiotskih odnosa među jedinkama možemo dobiti više informacija o promatranom organizmu, njegovom funkcioniranju i ekologiji. Gledajući iz perspektive holobionta, možemo sagledati širu sliku te potencijalno stečeno znanje dalje iskoristiti u svrhu zaštite, rješavanja određene problematike ili njene prevencije. Tako se pogled na jedinku kao holobionta iskoristio pri pokušaju kontrole populacija komaraca, smanjenju širenja bolesti i zaštiti općeg zdravlja. Dobro je poznata uloga ovih hematofagnih insekata kao vektora u

transmisiji raznih patogena. Pripadaju redu Diptera (hrv. dvokrilci) unutar porodice *Culicidae*. Život im je većinom vezan uz stajaću vodu u kojoj provode sve životne stadije osim zadnjega, stadija odrasle jedinke. U tom slučaju govorimo o imagu, odrasloj jedinci koja prolazi potpunu metamorfozu. Odrasle ženske jedinke hrane se krvlju kralježnjaka. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (World Health Organisation, WHO) komarci *Anopheles* sp., *Aedes* sp. i *Culex* sp., vektori su patogena koje prenose člankonošci, i predstavljaju najveću prijetnju ljudskom zdravlju (Guegan i sur., 2018). Morfologiju i njihove međusobne razlike prikazuje Slika 3.

| | <i>Anopheles</i> | <i>Aedes</i> | <i>Culex</i> |
|-----------------|---|---|---|
| Jajašca |  |  |  |
| Larve |  |  |  |
| Ticala |  |  |  |
| Odrasli komarac |  |  |  |

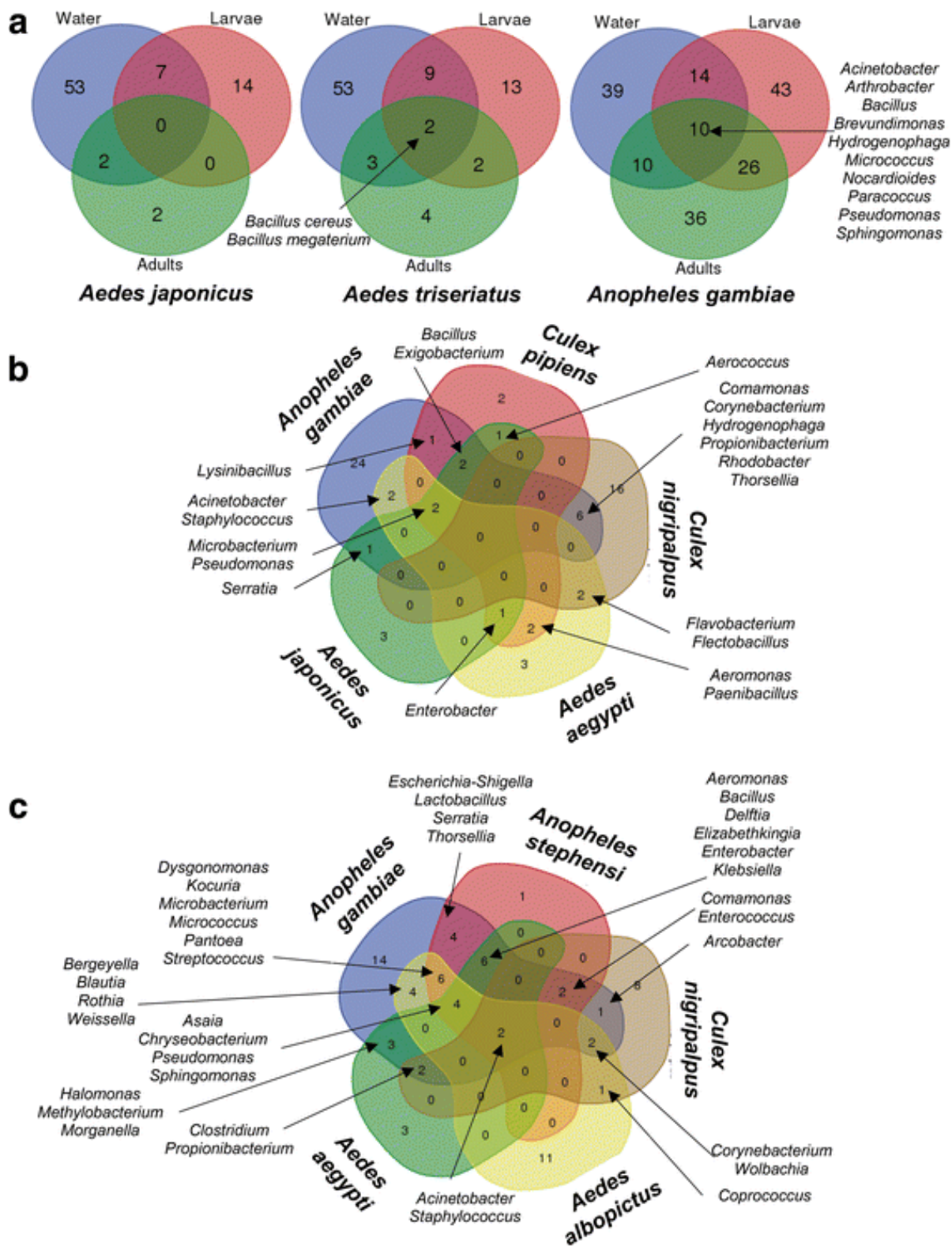
Slika 3: Morfološko-anatomske razlike komaraca rodova *Anopheles*, *Aedes* i *Culex*.. Izvor: <https://www.zzzjdnz.hr/kampanje/prestanimo-uzgajati-komarce/biologija-komaraca>

Vjerojatno najpoznatija bolest kojoj posreduju insekti jest malarija, bolest koju uzrokuje parazit roda *Plasmodium* pri čemu je vektor komarac roda *Anopheles*. Vrste roda *Aedes* dovode se u

vezu s prijenosom niza različitih virusa *Flavivirus* (porodica Flaviviridae). Uzročnici su ozbiljnih bolesti u ljudi. Neki od najpoznatijih su virus žute groznice, Zika virus, virus zapadnog Nila (<https://www.cdc.gov/vhf/virus-families/flaviviridae.html>). Simptomi često započinju stanjem sličnim blagoj gripu koji uključuju pojavu visoke tjelesne temperature, grčeve, bolove u tijelu i/ili glavi, mučninu, povraćanje. S vremenom se razvija jedan od profila koji mogu uključivati razne osipe, sklonost krvarenju (hemoragične groznice), artritis, encefalitis, meningitis itd. Pritom su posebice podložna tropska i subtropska urbana područja. Osim pogodne klime, ta su područja gusto naseljena i često slabijeg socio-ekonomskog statusa što rezultira smanjenom adekvatnom liječničkom skrbi. Ove viruse mogu prenijeti također i pripadnici roda *Culex*, kao i razne parazite. Populacije spomenutih rodova povećavaju svoju brojnost u korak s ljudskom populacijom i njenim geografskim širenjem. Također valja uzeti u obzir i globalno zatopljenje koje navedenim vrstama pomaže pri širenju areala.

3.2. Komarac holobiont

Većina studija mikrobioma komaraca bavi se njihovom bakterijskom komponentom. Provedena istraživanja dovode do zaključka da se veliki dio bakterijskog mikrobioma u komaraca stječe još za boravka u akvatičkom okolišu, daleko prije dosezanja stadija imaga. Uspoređujući mikrobiom odraslih jedinki i ličinki otkriva se da bakterijski sastav jedinki nije jednak tijekom cijelog životnog vijeka. Malen broj vrsta koje možemo naći u ličinki pronalazimo i u odraslih jedinki. Jedan od primjera takvih bakterija su vrste roda *Thorsellia* koje su zabilježene u ličinki vrste *Culex* sp., kao i u odraslih jedinki. U *Aedes* sp. zabilježene su bakterijske vrste koje pripadaju porodicama Micrococcaceae, Pseudomonadaceae i Staphylococcaceae, koje nalazimo u svih jedinki neovisno o njihovoj starosti, spolu ili načinu ishrane. Venovim dijagramima na Slici 4. prikazana su preklapanja određenih vrsta bakterija u različitim vrstama komaraca.



Slika 4: Prikaz brojnosti bakterijskih vrsta pronađenih u vodi, u ličinki i odraslih jedinki komaraca te preklapanje u bakterijskom sastavu u različitim vrsta. a) Broj bakterijskih svojti

pronađenih u vodi staništa, ličinkama i odraslim jedinkama različitih vrsta (*Aedes* sp., *Anopheles* sp.). b) Broj uobičajenih bakterijskih svojti u ličinki različitih vrsta (*Anopheles* sp., *Culex* sp. i *Aedes* sp.). c) Broj bakterijskih svojti uobičajenih u odraslim jedinki različitih vrsta (Guegan i sur., 2018)

Hemofagija u ženki progresivno mijenja oksidativne uvjete unutar probavila ovih insekata i time se modificiraju uvjeti života njenog mikrobioma. Bakterijske vrste zabilježene u vrsta komaraca djelomično se poklapaju s bakterijskim sastavom okoliša u kojem su pronađene. Na selektivnost organizama pritom mogu utjecati bazičnost pH vrijednosti, prisutnost litičkih enzima, redoks potencijal, niska razina kisika (ispod 5 %). Tako se može zaključiti da ličinke komaraca dio svoje bakterijskog mikrobioma stječu iz akvatičkog okoliša u kojem obitavaju. Drugi dio bakterijske mikrobioma primarno je ovisan o njihovoj ishrani. Intraspecijske varijacije do kojih dolazi možemo objasniti utjecajem različitih geografskih područja na kojima su populacije nađene i varijacijama u samom bakterijskom sastavu okoliša. Što su jedinke prostorno udaljenije te su varijacije uočljivije. Analizom i uspoređivanjem bakterijskog sastava jedinki iste vrste no s drugačijeg staništa, kao i jedinki različitih vrsta s istog staništa, možemo bakterijsku komponentu mikrobioma komaraca podijeliti u dvije skupine. Postoji dio bakterijskih vrsta koju dijele jedinke iste vrste neovisno o geografskoj lokaciji staništa (engl. core-microbiota). Primjerice, u *Aedes* sp. nađene su vrste *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. i *Aeromonas* spp. u više populacija prikupljenih na različitim lokacijama u Brazilu. U vrste *Anopheles* sp. analizom različitih populacija u Burkina Fasou zabilježene su vrste rodova *Thorsellia*, *Wolbachia*, *Massilia* i *Acinetobacter*. U vrsta roda *Culex* postoje različite mikrobne zajednice (Muturi i sur., 2016.). S druge strane, postoje bakterijske vrste zajedničke različitim vrstama koje obitavaju na istom staništu (eng. pan-microbiota concept). Time je nedvojbeno dokazano da postoji značajan utjecaj okoliša, ekologije i tipa ishrane koji oblikuje mikrobiom ovih insekata. Primjerice, kultivirana core-mikrobiota ženki vrsta *Aedes* iz sjeveroistočne Indije sastavljena je od istih bakterijskih vrsta iz rodova *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lysinibacillus* i *Staphylococcus* (Yadav i sur., 2015). Osim bakterijskog mikrobioma u komaraca se može pronaći i prisutnost virusa, gljiva i protista. U vrsta roda *Culex* zabilježeni su mikroorganizmi raznih rodova (*Candida*, *Cryptococcus*, *Galactomyces*). Analiziran je i sastav bakterijskog mikrobioma komaraca vektora. Pritom se uočavaju određena odstupanja u sastavu ili brojnosti bakterijske komponente. U jedinki vrsta

roda *Aedes* zaraženih virusom La Crosse zabilježeno je povećanje brojnosti populacija njenih bakterija, dok se brojnost jedinki gljiva smanjila. S druge strane, u daljnjoj vrsti istog roda brojnost jedinki bakterija smanjuje se prilikom zaraze virusom dengue. Dakle, prisutnost parazita ili virusa donosi određenu promjenu u ravnoteži pripadajućih mikroorganizama. Može doći do povećanja brojnosti određenih populacija na štetu drugih, općenitog smanjenja brojnosti populacija ili do promjena u samom sastavu. Virus također mogu inducirati sintezu određenih proteina, utjecati na sintezu i razgradnju lipida i utjecati na razne metaboličke puteve.

Znanje o načinu interakcije i utjecaju organizama jedan na drugoga može nam pomoći kako bismo ustanovili najmanje invazivan pristup u kontroli širenja populacija komaraca i prenošenju uzročnika mnogih bolesti. U nekih vrsta kvasaca primjećuje se interferencija s parazitskim vrstama. Primjerice, *Wickerhamomyces* sp. luči anti-plazmodij toksin *in vitro*, dok *Penicillium* sp. poboljšava infekciju s *Plasmodium* sp. suprimirajući domaćinov prirodni imunitet (Guegan i sur., 2018). Također, produkti metabolizma gljiva *Talaromyces* snižavaju aktivnost probavnih enzima koji reguliraju infekcije virusom dengue svog prirodnog domaćina, vrste roda *Aedes*. Tako se otvara cijeli novi pristup biološkoj kontroli širenja mnogih zaraznih bolesti. Obećavajuće rezultate daju istraživanja bazirana na simbiontu roda *Wolbachia*. Pri transfekciji komaraca bakterijama ovog roda primijećeno je smanjenje razvitka *Plasmodium* u smjeru širenja malarije. Pritom se koristi wPip soj za koji se ustanovilo da ne utječe značajno na fitness domaćina. Tako se vrši sve više istraživanja kako bi se pronašao novi način kontrole transmisije patogena.

4. Zaključak

Simbioza je odnos neizostavan u prirodi. Vežemo ju uz mnoge evolucijske teme, postanak eukariotske stanice, pojavu višestaničnosti, a daljnji razvoj simbionata unutar uspostavljene simbioze izrazito je važan evolucijski proces koji služi kao okidač u daljnjim procesima specijacije i evolucije. Simbionti unutar holobionta neupitno utječu jedan na drugoga. Zabilježene su mnoge međusobne ovisnosti od izrazite važnosti za rast, razvoj i reprodukciju holobionta. Daljnja istraživanja ove teme mogla bi nas dovesti do jednostavnijih i efikasnijih

rješenja u liječenju nekih bolesti. Uobičajena farmakoterapija često neugodnim nuspojavama ozbiljno smanjuje kvalitetu života pacijenata, uz to što za sobom često ostavlja neizbrisiv trag na organskim sustavima, posebice pri dugotrajnom liječenju kroničnih stanja (oštećenja bubrega, jetre). Osim jasnog utjecaja na metabolizam, morfološko-anatomske karakteristike i ponašanje jedinki, princip holobionta može nam donijeti još mnogo drugih poveznica, pitanja i odgovora, na razini populacije i specijacije.

Princip holobionta temeljen je na činjenici da je hologenom, sastavljen od genoma eukariotskog domaćina i pripadajućeg mikrobioma, zbog povećanja genske zalihe u velikoj evolucijskoj prednosti. Veća genska zaliha, kao i njihove međusobne interakcije, daju mogućnost jedinci brže i lakše prilagodbe na okoliš. Simbiotski odnosi i simbiogeneza postali su imperativ u životu eukariota. Njegov mikrobiom neosporno podešava biologiju i ekologiju holobionta. Potičemo nova istraživanja na ovom području kako bi se lakše stekla šira slika živih organizama i kako bi se stečeno znanje moglo višestruko iskoristiti. Svakako je princip holobionta jedan novi način gledanja na eukariotske organizme koji otvara vrata potpuno novim metodama, i samom pristupu, koji će uvelike pomoći u boljem razumijevanju živog svijeta, njegovoj zaštiti i rješavanju bioloških pitanja.

5. Literatura

Bosch T. C. G., Miller D. J. (2016): The Holobiont Imperative. Perspectives from Early Emerging Animals. Springer-Verlag Wien, Springer Wien Heidelberg New York Dordrecht London.

Bravo J. A., Forsythe P., Chew M. V., Escaravage E., Savignac H. M., Dinan T. G., Bienenstock J., Cryan J. F. (2011): Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 108: 16050-16055.

Douglas, A. E. (1994): Symbiotic Interactions. Oxford University Press Inc, Oxford and New York.

Engel P., Moran N. A. (2013): The gut microbiota of insects - diversity in structure and function. FEMS Microbiol. Rev. 37: 699-735.

Foster J. A., Neufeld M. Karen-Anne (2013): Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression Trends Neurosci. 36: 305-312.

Guégan M., Zouache K., Démichel C., Minard G., Van T. V., Potier P., Mavingui P., Moro C. V. (2018): The mosquito holobiont: fresh insight into mosquito-microbiota interactions, Microbiome 6, 49.

Guerrero R., Margulis L., Berlanga M. (2013.): Symbiogenesis: the holobiont as a unit of evolution. Int. Microbiol. 16: 133-143.

Heijtz R. D., Wang S., Anuar F., Qian Y., Björkholm B., Samuelsson A., Hibberd M. L. Forssberg H., Pettersson S., (2011): Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 108: 3047-352.

Muturi E. J., Chang-Hyun K., Bara J., Bach E. M., Siddappaji M. H. (2016.): *Culex pipiens* and *Culex restuans* mosquitoes harbor distinct microbiota dominated by few bacterial taxa, Parasit. Vectors. 9, 18.

Ravanbakhsh M., Sasidharan R., Voesenek L. A. C .J., Kowalchuk G. A., Jousset A. (2018): Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences. Microbiome. 6, 52.

Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. (2013): The Hologenome Concept: Human, Animal and Plant Microbiota. Springer International Publishing Switzerland, Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London.

Simon J. C., Marchesi J. R., Mougél C., Selosse M. A. (2019): Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis. *Microbiome* 7, 5.

Sorek M., Schnytzer Y., Ben-Asher H. W., Chalifa-Caspi V., Chen C. S., Levy O., Miller D. J., Levy O. (2018): Setting the pace: host rhythmic behaviour and gene expression patterns in the facultatively symbiotic cnidarian *Aiptasia* are determined largely by *Symbiodinium*. *Microbiome*. 6, 83.

Yadav K. K., Bora A., Datta S., Chandel K., Gogoi H. K., Prasad G. B. K. S., Veer V. (2015): Molecular characterization of midgut microbiota of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* from Arunachal Pradesh. *Parasit. Vectors*. 8, 641.

Internetski izvori:

Centers for disease control and prevention (2022) <https://www.cdc.gov/vhf/virus-families/flaviviridae.html> (pristupljeno 12.07.2023).

Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža (2021).<https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=58387> (pristupljeno 09.07.2023.).

ResearchGate (2017) https://www.researchgate.net/figure/The-Hydra-Holobiont-Hydra-are-an-ideal-system-to-deconstruct-and-reconstruct-an_fig2_320948904 (pristupljeno 19.09.2023.).

Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije <https://www.zzjzdnz.hr/kampanje/prestanimozgajati-komarce/biologija-komaraca> (19.09.2023).

6. Životopis

Rođena sam 25.09.1994. godine u Zagrebu. Još od malih nogu privlači me priroda i životinjski svijet. U meni se probudila želja za znanjem o svijetu oko sebe. Neke od odgovora na ta pitanja dobila sam tijekom obrazovanja u Prirodoslovnoj gimnaziji Vladimira Preloga. Praktikumskom nastavom u laboratorijima kemije, fizike i biologije upoznajem se prvi puta s eksperimentalnim radom. Upisom smjera Znanosti o okolišu u potpunosti uspijevam u ideju da povežem teorijski i eksperimentalni rad koji ima praktičnu primjenu. Interdisciplinarna znanost je polje mog interesa upravo zbog spajanja znanja više područja. Njihovom primjenom mogu direktno doprinijeti upravljanju i zaštiti prirode, okoliša, i živih bića.