

Vertikalni i horizontalni transfer gena kod lišajeva

Tunjić, Monika

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:236666>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

VERTIKALNI I HORIZONTALNI TRANSFER GENA KOD LIŠAJEVA
VERTICAL AND HORIZONTAL TRANSFER OF GENES IN LICHENS

SEMINARSKI RAD

„...The beauty of lichens, with their scalloped leaves, the small attractive fields, the crinkled edge! I could study a single piece... for hours. How they flourish! I sympathize with their growth.“- Thoreau, 26. sije nja 1852.

Monika Tunji

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Petra Kora

Zagreb, 2013.

Sadržaj

1. UVOD	3
2. BIOLOGIJA LIŠAJEVA	4
2.1. Sistematika, ekologija i podjela lišajeva	4
2.2. Mikobionti	7
2.3. Fotobionti	8
3. HORIZONTALNI TRANSFER GENA.....	9
3.1. Horizontalni transfer gena u cijanobakterija	11
3.2. Horizontalni transfer gena kod algi	12
3.3. Horizontalni transfer gena kod gljiva	13
3.4. Horizontalni transfer gena kod lišajeva	14
4. VERTIKALNI TRANSFER GENA (RAZMNOŽAVANJE LIŠAJEVA).....	16
4.1. Spolno razmnožavanje lišajeva	17
4.1.1. Utjecaj spolnog razmnožavanja na geneti ku strukturu populacije lišajeva	19
4.2. Nespolno razmnožavanje lišajeva	20
4.2.1. Utjecaj nespolnog razmnožavanja na geneti ku strukturu populacije lišajeva	21
4.3. Zna aj istraživanja promjena geneti kih struktura unutar populacija lišajeva	23
5. ZAKLJU AK	24
6. LITERAURA	25
7. SAŽETAK.....	28
8. SUMMARY	29

1. UVOD

Simbioza (gr . syn-zajedno, bios-život) je bliska i naj eš e dugotrajna životna zajednica dvaju organizama razli itih vrsta. Po koristi koju organizmi dobivaju iz te zajednice, simbioza se može podijeliti u nekoliko tipova:

- parazitizam-parazit ima korist na štetu domaćina
- komenzalizam-jedan organizam ima korist, a drugi nema ni koristi ni štete;
- mutualizam-oba organizma imaju korist
- neutralizam- nijedna vrsta nema ni štete ni koristi

Definicija simbioze još uvijek je sporna među znanstvenicima. Dok je neki smatraju izrazito mutualističkom zajednicom, drugi smatraju da se taj naziv može upotrijebiti za sve navedene tipove životnih zajednica. (Nash, 2008.)

Lišajevi su po definiciji simbiotski organizmi, a hipotezu o njihovoj dualnoj prirodi predložio je 1868. njemački botaničar Simon Schwendener. U početku je ona bila osporavana od vodećih njemačkih botaničara 19. stoljeća, poput Augusta von Krempelhubera, Wilhelma Körbera, Jeana Müllera Argoviensisa i Williama Nylandera. Nekoliko godina kasnije, u periodu između 1874. i 1877. godine, njemački botaničar Ernst Stahl eksperimentalno je potvrdio Schwendenerovu dualnu hipotezu, pokazavši da se lišaj razvija samo iz kombinacije pojedinačnih spora gljive i stanica alge. (Honegger, 2000.)

Danas znamo da je lišaj simbiotska zajednica mikobionta, naj eš e gljive iz razreda mješinarke (*Ascomycota*) i listaparki (*Basidiomycota*), te fotobionta koji može biti eukariot (zelena alga), ili prokariot (cijanobakterija). (Nash, 2008.)

Titulu *pionira vegetacije* stekli su zbog svoje sposobnosti da stvore primjerene životne uvjete u ekološkim ekstremitetima niske ili visoke temperature te prostorima visoke ili niske vlažnosti koji nisu naseljeni i tako omogućavaju prihvatljive životne uvjete drugim vrstama. Lišajevi preživljavaju temperature do -196°C a mogu fotosintetizirati na temperaturi -24°C . (Nash, 2008.)

Fosilni nalazi lišajeva rijetki su. Osim što je njihovo, često krhko, taluse teško otkopati procesima fosilizacije, one sačuvane primjerke paleontolozi rijetko prepoznaju kao lišajeve.

Dosad su sa sigurnoš u potvr ena dva nalaza fosiliziranih lišajeva: kineski je star 600 milijuna godina, a škotski 480 milijuna godina. (Nash, 2008.)

2. BIOLOGIJA LIŠAJEVA

2.1. Sistematika, ekologija i podjela lišajeva

Lišajevi se klasificiraju kao gljive, a procjene broja vrsta premašuju 18 000. Najve i broj vrsta pripada razredu mješinarke (gotovo polovina svih mješinarke stvara lišajeve), a tek nekoliko vrsta pripada razredu stap arki i takvi lišajevinaj eš e žive u tropskim podru jima. (Nash, 2008.)

Simbioza lišajeva pojavila se nakon razvoja gljiva, algi i cijanobakterija. Postoje e grupe gljiva sadrže vrste koje mogu i one koje ne mogu stvarati lišajeve. Zbog toga se pretpostavlja da se ta mogu nost pojavila nekoliko puta tijekom evolucije u razli tim grupama gljiva i lišajeve se smatra polifiletskom skupinom organizama (polifiletske skupine – skupine iji su pripadnici porijeklom od više zajedni kih predaka iji su preci tako er klasificirani u više razli itih skupina; zajedni ke su im fizi ke karakteristike). (Nash, 2008.)

Veli ine talusa ovih autotrofa mogu biti razli ite, od nekoliko milimetara do 2 metra, a godišnji rast procjenjuje se na 0,5 mm. Boje talusa (žuta, crvena, naran asta, zelena, siva, sme a, crna) ovisi o pigmentima i ostalim sekundarnim metabolitima, te podlozi na kojoj lišaj raste. Lišajevi se pojavljuju kao epifiti na drve u, mogu rasti na tlu, kamenju, te kao epifili (brzorastu e vrste lišajeva u tropskim i subtropskim podru jima koje koloniziraju površinu lista). Ve inom su terestrijalni autotrofi, ali neke se vrste pojavljuju u potocima (*Peltigera hydrothyria*) i podru jima izmjene plime i oseke na morskim obalama (*Lichina* spp.). Dominiraju vegetacijom polarnih i subpolarnih podru ja, te su zna ajan dio planinskih, obalnih i prašumskih ekosustava, poput kišnih šuma južne polutke ili tajgi sjeverne hemisfere. (Slika 1.) (Nash, 2008.)



Slika 1. *Cladonia rangiferina*, lišaj karakterističan za polarna i subpolarna područja (izvor slike: images.fineartamerica.com)

Poput mahovina i papratnjača, lišajevi su poikilohidrični organizmi čiji vodni status ovisi o okolišnim uvjetima. Većinu vode dobivaju od kiša, a dostupnost vode od iznimnog je značaja za njihovo preživljavanje i objašnjava obrasce rasprostranjenosti i genetičkih struktura populacija. (Nash, 2008.)

Prema tipovima stjeljke, lišajevi se dijele u nekoliko grupa:

- zrnati (leprozni) lišaj-nakupine zrnaca koje se sastoje od stanica gljive i stanica alge;
- korasti (krustozni) lišaj-tvori vrstu prevlaku na podlozi, neodvojiv od podloge;
- ljuskasti (skvamulozni) lišaj-sastoji se od djelomično povezanih i preklapaju ih ljuskica;
- listasti (foliozni) lišaj-steljka od djelomično preklapaju ih režnjeva, u ovu grupu pripadaju pupasti (samo na jednom mjestu pri vršenju za podlogu) i želationozni lišajevi (cijanobakterije raspoređene u svim slojevima talusa);
- grmasti (frutikozni) lišaj-pri vrsnicom pri vršenju za podlogu na jednom mjestu; sastoji se od brojnih vrpastih ili valjkastih ogranaka;
- sastavljeni lišaj-primarna steljka ljuskastog oblika, sekundarna steljka grmastog oblika s podcijimima na kojima se razvijaju plodišta. (Slika 2.) (Partl, 2009.)



Slika 2. Podjela lišajeva prema tipu steljke. A-leprozni lišaj, *Lepraria incana*; B-korasti lišaj, *Ophiopharma ventosa*; C- skvamulozni lišaj, *Squamarina cartilaginea*; D- listasti lišaj, *Peltigera membranacea*; E- grmasti lišaj, *Rocella phycopsis*; F-sastavljeni lišaj, *Cladonia cristatella* (izvor slike A-E: www.lichens.lastdragon.org , izvor slike F: commons.wikimedia.org)

Zbog mnogih sekundarnih metabolita šarolikih aktivnosti, lišajevi imaju veliku praktičnu primjenu. Zbog antiviralnih i antibakterijskih svojstava nekih njihovih sekundarnih metabolita, koristi ih se u farmaceutskoj industriji. Primjerice, polisaharidi vrste *Umbilicaria esculenta* pokazuju inhibitorско djelovanje na replikaciju virusa HIV-a u laboratorijskim uvjetima. (Slika 3.) Komercijalno najpoznatija vrsta je *Cetraria islandica* koja se koristi u proizvodnji sirupa protiv kašlja. (Slika 4.) Zbog jakih pigmentata, koriste se za bojanje tkanina. Neke se vrste koriste za izradu parfema, a neke za prehranu. Takva široka primjena esto dovodi do smanjivanja veličine populacije na nekom području. (Nash, 2008.)



Slika 3. *Umbilicaria esculenta*
(izvor slike: <http://www.herbaextractok.com>)



Slika 4. *Cetraria islandica*
(izvor slike: www.de.academic.ru)

2.2. Mikobionti

Gljive su kao heterotrofni organizmi razvile različite hranidbene strategije za pribavljanje fiksiranog ugljika. Pribavljanje ugljika od fotobionta u simbiotskoj zajednici lišaja uostao je i široko rasprostranjen na in prehrane. Smatra se da 20% svih vrsta gljiva stvara lišaje. Vrste koje ih najčešće stvaraju pripadaju razredu mješinarke, *Ascomycotes* (oko 13 000 vrsta) i staparke, *Basidiomycotes* (oko 400 vrsta). Neke od tih vrsta imaju uniforman na in prehrane, a nekima na in ishrane varira. Najučestaliji na in prehrane gljiva su: degradacija mrtvog organskog materijala, parazitske i mutualističke simbioze. Gljive koje mogu stvarati lišajeve mogu se uzgojiti u aposimbiontskom stanju, no, u prirodi se isključivo pojavljuju u simbiozi s fotobiontom. To znači da su te gljive ekološki obligatni, a fiziološki fakultativni biotrofi (biotrofi su organizmi koji hranu uzimaju iz drugog živog organizma). (Nash, 2008.)

Molekularne filogenetske analize pokazale su taksonomsku povezanost između gljiva sa sposobnošću stvaranja lišajeva i gljiva bez te sposobnosti. Lišajevi su evoluirali puno prije nego što je to pretpostavljeno, ali se simbiotska zajednica s fotobiontima puno puta gubila tijekom evolucijske prošlosti u pojedinim grupama gljiva. (Nash, 2008.)

Da bi stvorile lišaj, gljive su morale razviti posebne adaptacije. One se oslanjaju na inu prehrane te prilagodbama na suživot s fotobiontskim stanicama. Najvidljivija promjena je promjena morfologije stieljke gljive kad je u simbiotskom stanju. (Nash, 2008.)

2.3. Fotobionti

Rodovi zelenih algi *Trebouxia* i *Trentepohlia* (fikobionti) te rodovi cijanobakterija *Nostoc* i rjeđe *Gleocapsa* (cijanobionti), najčešće su fotobionti u lišajevima. Većina je algi u lišajevima u odjeljku zelenih algi, koje dijele mnoge stanične karakteristike i pigmentaciju (na primjer: klorofil a i b) s kopnenim biljkama. (Nash, 2008.)



Slika 5. Cijanobakterije iz roda *Nostoc* (izvor slike: www.arch.ced.berkeley.edu)

Prijenos metabolita iz autotrofnog fotobionta u heterotrofnog mikobionta ovisi o tipu fotobionta. U lišajevima sa zelenim algama ugljikohidrati su šećeri i alkoholi (manitol, arabitol), a u lišajevima sa cijanobakterijama ugljikohidrat je glukoza. (Nash, 2008.)

Determinacija cijanobakterije u lišaju s preciznošću se može odrediti samo ako se cijanobakterija uzgoji u laboratoriju. Određivanje vrste cijanobakterije temelji se na karakteristikim razvojnim stadijima koji nisu potpuni u simbiozi s mikobiontom. Uz to, mijenja se i morfologija same stanice te broj heterocista (heterociste: specijalizirane stanice za fiksaciju atmosferskog dušika, sadrže enzim nitrogenazu). Određivanje do roda moguće je direktno iz talusa primjenom metode PCR-a, detekcijom sekvenci DNA karakterističnih za 16S rDNA cijanobakterije. (Nash, 2008.)

U simbiozi s gljivama pojavljuju se kokoidne, sarkoidne i filamentozne zelene alge. Filamentozne su najčešće reducirane na kratke fragmente ili pojedinačne stanice što omogućuje lakše stvaranje vegetativnih spora. Za determinaciju do roda, mogu se koristiti uobičajene laboratorijske preparativne metode (poput *squashanja*), a za determinaciju do vrste, potrebno ih je uzgojiti u laboratoriju. (Nash, 2008.)

Neki rodovi lišajeva imaju zelenu algu kao primarnog fotobionta, a cijanobakteriju kao sekundarnog fotobionta. U takvim slučajevima, sekundarni su fotobionti smješteni u vanjskim ili unutarnjim cefalodijima. Cefalodiji su male okruglaste strukture na površini ili unutrašnjosti talusa u kojima su smještene cijanobakterije. Stvaranjem gustog kortikalnog

sloja oko cefalodija, mikobiont osigurava optimalne mikroaerobne uvjete za maksimalnu fiksaciju dušika. Cijanobakterije unutar cefalodija imaju povećan broj heterocista te posljedno tome i povećanu nitrogenaznu aktivnost. (Nash, 2008.)

3. HORIZONTALNI TRANSFER GENA

Evolucija živog svijeta uvelike je obavijena neznanjem i rascjepkana karikama koje nedostaju. Prije nego što su citavi genomi mogli biti sekvencirani, vladalo je mišljenje da različitosti u genomima mogu nastati samo kao posljedica kontinuiranih, postepeno nakupljaju ih mutacija na koje onda djeluje selekcijski pritisak kao svojevrsno sito koje dopušta nasljeđivanje većinom onih svojstava i osobina od kojih organizam ima koristi. Sekvenciranje genoma omogućilo je uvid u novu dimenziju kojom se mogu objasniti odnosi između različitih jedinkama istih ili drugih vrsta. Ta dimenzija otkrila je da mutacije, preslagivanja i duplikacije gena te homologna rekombinacija nisu jedini izvori novih gena u genomima. Kao jednu od komponenti inovacije genoma svakako se treba proučavati i horizontalni (lateralni) transfer gena.

Horizontalni transfer gena (HTG) prijenos je gena između organizama različitih vrsta ali i različitih domena živog svijeta. Budući da ga se smatra bitnim mehanizmom dobivanja evolucijskih noviteta, HTG dovodi u pitanje neo-darvinistički koncept o postupnom stjecanju novih svojstava i funkcija. (Boto, 2009.) HTG važna je pokretačka sila u evoluciji bakterija i arheja te jednostaničnih i višestaničnih eukariota. Horizontalni prijenos gena najzastupljeniji je u domeni Archaea, zatim slijedi Bacteria, a domena Eucarya najmanje je podložna HTG-u. (Choi i sur., 2006.) HTG otkriven je na temelju pojavnosti *multidrug resistance* obrazaca na svjetskoj razini u različitim populacijama bakterija. (Ochmann i sur., 2000.) Prema ustalosti prijenosa horizontalnim transferom, gene možemo podijeliti u 2 skupine. Prva skupina obuhvaća one manje podložne HTG-u, a pripadaju joj tzv. informacijski geni: geni uključeni u DNA replikaciju, transkripciju, translaciju te geni čiji produkti stupaju u višestruke interakcije s drugim proteinima i molekulama. Drugoj skupini, skupini tzv. operativnih gena, pripadaju *housekeeping* geni te geni čiji produkti nemaju ulogu u složenim metaboličkim putevima. (Boto, 2009.) Kompleksnost gena (ukupnost molekularnih interakcija u koje stupa genski produkt) važniji je čimbenik u integraciji i zadržavanju gena prenesenog horizontalnim transferom od funkcionalne skupine kojoj gen pripada. Ova teza o dvjema skupinama gena i kompleksnosti gena kao odlučujućem faktoru u zadržavanju prenesenog gena, sačinjava tzv. hipotezu kompleksnosti (od engl. complexity hypothesis) postavljenu 1999. (Jain i sur., 1999.)

Osim kompleksnosti gena i skupine kojoj gen pripada, odluku o tome hoće li se gen inkorporirati i zadržati u genomu donosi i pozitivna prirodna selekcija-ukoliko je novosteni gen koristan organizmu, on se zadržava, ukoliko nije, nema prijenosa na potomstvo. Geni koji kodiraju za novi receptor na staničnoj membrani, ugrađuju se u mrežu regulatornih interakcija veoma sporo, i to najčešće na periferiju takvih mreža. Ako preneseni gen kodira produkt koji stupa u interakciju s puno drugih proteina, veća je vjerojatnost da će biti izbrisan iz domaćinog genoma. Lateralni prijenos gena puno je češći između organizama koji su filogenetski manje udaljeni, odnosno, koji su se kasnije odvojili od najmlađeg zajedničkog pretka. (Boto, 2009.)

Uspješnost horizontalnog transfera gena ovisi o uspješnom transferu genetičkog materijala i opstanku prenesenih gena kroz generacije. Stjecanje novih osobina HTG-om zahtijeva ispunjenje triju uvjeta:

- 1) treba postojati način na koji se donorska DNA prenosi u recipijenta;
- 2) prenesene sekvence moraju se ugraditi u domaćinog genom (ili se povezati s autonomno replicirajućim elementom u domaćinu ili opstati kao episom);
- 3) ugrađeni geni moraju se eksprimirati na način da organizam ima koristi od njih.

Način prijenosa u domaćinog genom su: transformacija, transdukcija ili konjugacija iz kojih slijedi opstanak prenesenog materijala kao episoma, integracija uz pomoć bakteriofagnih integraza ili transpozaza pokretnih genetičkih elemenata ili ilegitalna rekombinacija nakon dvostranih DNA lomova.

Pri proučavanju već postojećih i izradi novih filogenetskih stabala, ključni dokaz da je određena sekvenca u genomu prenesena horizontalnim transferom gena jest molekularna genetička analiza sekvence tog gena. Potrebno je dokazati razlikuje li se i način na koji se ta sekvenca razlikuje od sekvenci vertikalno prenesenih gena. Horizontalno prenesene sekvence imaju ograničenu filogenetsku rasprostranjenost među srodnim sojevima i vrstama. Također, takve sekvence zadržavaju mikrosatelitna obilježja svog pretka kao i ostatke transpozonskih elemenata, ishodišta transfera plazmida i *att* mjesta nekih faga. (Ochmann i sur., 2000.)

Neka od svojstava i funkcija koje genom domaćina može steći horizontalnim prijenosom gena iz donora su otpornost na antibiotike, virulentnost (plazmidi ili otoci patogenosti, od engl. pathogenicity islands), ekspanzija metaboličkih puteva (npr. sinteza nekih novih primarnih i sekundarnih metabolita koji omogućuju razvoj u novim ekološkim

nišama). Stjecanje novih osobina rezultira adaptacijom na nove ekološke niše i potencijalno specijacijom. (Cohen i sur., 2011.)

Metode detektiranja HTG-om prenesenih sekvenci baziraju se na molekularnim filogeneti kim analizama. Takve analize naj eš e se koriste za traženje atipi ne rasprostranjenosti gena me u organizmima a uklju uju traženje:

- a) gena s veoma ograni enom rasprostranjenosti, prisutnih u pojedinim izoliranim taksonima, ali nepostoje ih u bliskosrodnim vrstama;
- b) gena s neuobi ajeno visokom sli noš u onim genima koji se nalaze u taksonima koji ni po kojem drugom obilježju ne nalikuju taksonu u kojem se nalazi istraživani gen;
- c) gena iji filogeneti ki odnosi nisu u skladu s me usobnim odnosom drugih gena u istom genomu.

Jedna od najvažnijih razlika izme u horizontalnog i vertikalnog transfera gena je evolucijski period u kojem pojedini transfer uzrokuje promjene u genomu. Horizontalni transfer gena stvara nove fenotipove i izmjenjuje genome i filogenetske odnose u duljim vremenskim periodima, a vertikalni transfer (uklju uje i mutacije, preslagivanja gena i dr. intragenomske promjene) mijenja genome i filogenetske odnose u kra im vremenskim razdobljima. Varijacije u genomima uzrokovane to kastim mutacijama ne stvaraju nove nego izmjenjuju ve postoje e fenotipove. (Gogarten i sur., 2005.)

3.1. Horizontalni transfer gena u cijanobakterija

Glavni posrednici u horizontalnom prijenosu gena u cijanobakterija su cijanofagi. Oni prenose gene izme u cijanobakterija i purpurnih bakterija (Proteobacteria), zelenih sumpornih bakterija (Chlorobi), zelenih filamentoznih bakterija (Chloroflexi), gram-pozitivnih heliobakterija (Firmicutes).

S obzirom na u estalost kojom se prenose horizontalnim transferom gena, geni cijanobakterija mogu se podijeliti na gene srži (od engl. core genes) i gene ljuske (od engl. shell genes) cijanobakterijskog genoma. Geni koji kodiraju za velike kompleksne sustave s više makromolekularnih interakcija manje su podložni HGT-u od onih gena koji kodiraju za male komplekse nekoliko genskih produkata. Fotosintetski i ribosomalni geni dijele sli nu evolucijsku prošlost i pripadaju srži cijanobakterijskog genoma. Oni su *otporni* na horizontalni transfer i vrlo esto tvore kvazi-operone koji sadrže 2-4 gena koji su konzervirani me u svim cijanobakterijama i plastidima. Geni koji kodiraju za funkcionalni dodatak

fotosintetskom aparatu te proteini ija se funkcija još istražuje, podložni su horizontalnom transferu i ine gene ljuske cijanobakterijskog genoma.

Prepoznatljiva osobina cijanobakterija njihova je sposobnost fiksiranja atmosferskog dušika. Posljednji, najmla i zajedni ki predak danas postoje ih cijanobakterija nije imao tu sposobnost fiksacije. To se svojstvo steklo mnogo kasnije, u kasnim arheanskim i ranim proterozoi kim eonima. Došlo je do transfera *nif* operona iz heterotrofnog prokariota u cijanobakteriju. (Shi i sur., 2007.)

3.2. Horizontalni transfer gena kod algi

Lynn Margulis 60-ih godina dvadesetog stolje a objasnila je pojam primarne endosimbioze i dala naslutiti pojavu koju danas znamo kao horizontalni transfer gena. Dio gena koji kodiraju za plastidne ili mitohondrijske gene jednostavno se presele iz kloroplastnog ili mitohondrijskog u jezgrin genom.

Danas znamo da su kloroplasti fotosintetskih eukariota nastali endosimbiozom heterotrofnog eukariota i fotosintetske cijanobakterije. Tako er, poznato je da su se plastidi crvenih i zelenih algi lateralno prenosili na filogenetski udaljenije organizme sekundarnom endosimbiozom, na na in da je heterotrofni eukariot invaginirao algu s primarnim kloroplastom i zadržao njezin fotosintetski aparat.

Sedam razli itih skupina algi (Haptophyta, Heterokontophyta, Cryptomonada, Dinoflagellata, Apicomplexa, Euglenophyta i Chlorarachniophytes) svoju vlastitu evoluciju prolazi zahvaljuju i sekundarnoj endosimbiozi, a dokaz za takvu evoluciju pronalazimo kod dviju skupina morskih flagelatnih algi, Chlorarachniophytes i Cryptomonada, koje su zadržale nukleomorf, ostatak jezgre primarnog endosimbionta. Nukleomorf je smješten izme u vanjskih dviju i unutrašnjih dviju membrana plastida sekundarnog endosimbionta. Endosimbiont tih algi pripada skupini zelenih algi.

Ve ina proteina potrebnih plastidima kodirana je genomom jezgre. Ti se proteini naknadno prenose u kloroplaste pomo u N-terminalnih signalnih sekvenci. Prijenos u primarnog endosimbionta ide uz pomo tranzitnih peptida, a u sekundarnog endosimbionta uz pomo signalnog peptida koji protein usmjerava prema endomembranskom sustavu, a zatim pomo u tranzitnog peptida. Ve ina gena iz plastida primarnog endosimbionta bila je prenesena u genom doma ina, a ve ina gena sekundarnog endosimbionta bila je prenesena iz jezgre primarne alge u genom jezgre doma ina.

U alge *Bigelowiella natans*, 21% lateralno prenesenih gena nema podrijetlo od plastida endosimbionta već iz drugih izvora. Neki od njih su: streptofitne alge, crvene alge, plastidi endosimbionata crvenih algi. Na in prehrane igra važnu ulogu u opsegu lateralnog transfera gena algi. *B.natans* ima miksotrofan na in prehrane, za takve organizme se pretpostavlja da su podložniji primanju gena putem lateralnog transfera. Plastidni geni autotrofa *Chlamydomonasa* ne pokazuju podrijetlo od lateralnog transfera. (Archibald i sur., 2003.)

3.3. Horizontalni transfer gena kod gljiva

Op enito je prihva eno da je horizontalni transfer gena zna ajnijeg u inka u prokariota nego eukariota. No, kod gljiva postoje odre eni mehanizmi koji olakšavaju proces horizontalnog transfera, ali na in na koji djeluju nije u potpunosti razjašnjen. Transfer gena iz bakterija u gljivu omogu en je bakterijskim konjugacijskim plazmidima (Heinemann i Sprague, 1989.), gljive je mogu e transformirati u odre enim laboratorijskim uvjetima, a neke gljive, poput kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, mogu e je transformirati bakterijom *Agrobacterium tumefaciens*.

Proces anastomoze povezan je s HTG-om kod gljiva. To je fuzija istih ili razli itih hifa. Ukoliko je izvorište spajanja nekoliko razli itih spora, nastaju konidijalne anastomozne cjev ice me u kojima je omogu ena izmjena plinova, doprema nutrijenata, zajedni ka regulacija razvoja te izmjena geneti kog materijala izme u mladih gametofita koji se zbog toga mogu ponašati kao jedinstvena koordinirana individua. Iako su kod gljiva otkriveni sustavi za prepoznavanje stranog, postoje dokazi o stvaranju anastomoznih cjev ica izme u razli itih vrsta patogenih gljiva.

Usprkos nekim mehanizmima koji ga olakšavaju, i dalje postoje barijere za horizontalni transfer gena kod gljiva. Neke od njih su: pri vrš enost jezgre za membranu, razli ito procesiranje introna u razli itim vrstama, nekompatibilni promotori gena, alternativan geneti ki kod.

Gljive su stekle mnoge povoljne osobine putem horizontalnog transfera gena. Geni preneseni iz prokariota gljivama su omogu ili sintezu biotina, rast u anaerobnim uvjetima, sposobnost stvaranja sulfata iz nekoliko razli itih organskih izvora, fermentiranje vina, razli ite toksine, patogenost.

Horizontalni transfer gena zabilježen je u nekoliko smjerova. Najlakše se otkriva transfer iz prokariota u gljivu. Problem koji predstavlja različitost izrezivanja introna u različitim vrstama eukariota ne postoji kod prokariota; broj i različitost bakterijskih populacija puno je veći od broja eukariotskih populacija; bakterijski geni svrstani su u operone pa transfer relativno malog segmenta prokariotske DNA može značiti prijenos cijelog jednog metaboličkog puta. Primjer za transfer iz prokariota u gljivu su geni *BIO3* i *BIO4* biotinskog metaboličkog puta u *S.cerevisiae*. (Fitzpatrick, 2011.)

Prijenos iz jedne u drugu gljivu zabilježen je iz vrste *Aspergillus nidulans* u vrstu *Podospora anserina*, a prenesena su 23 gena sterigmatocistinskog metaboličkog puta (sterigmatocistin je toksični sekundarni metabolit). (Slot i Rokas, 2011.)

Zabilježen je i prijenos 4 biljna gena u gljivu. (Richards i sur., 2009.)

Ukupno gledajući, horizontalni transfer gena kod gljiva ima utjecaj na odabir ekoloških niša, patogenost, promjene u svojstvima metabolizma.

3.4. Horizontalni transfer gena kod lišajeva

Simbioza je sama po sebi zagonetna pojava, a veoma je takvih zajednica još uvijek nedovoljno istražena. Odnosi organizama i sve pojave u živom svijetu znanstvenici pokušavaju objasniti genetičkim analizama pa uzrok svih pojava traže u genima. Budući da su lišajevi organizmi koje sačinjavaju dva ili tri različita zasebna organizma, genetičke analize lišajeva još su kompliciranije.

Istraživanja molekularne biologije lišajeva još uvijek su u povojima, a podloga veoma im je pitanje na koji se način uspostavlja sama zajednica alge i gljive. Ključni geni u tom procesu kod gljive su: geni za proteine uključene u prepoznavanje vlastitog i tuđeg, geni za lipidni metabolizam, geni za proteine na koje glukoza djeluje kao inhibitor, oksidoreduktaza, dioksidgenaza, hipotetski konzervirani protein. Geni alge koji su bitni u tom procesu su: gen za protein nalik hitinazi, gen za protein uključen u metabolizam aminokiselina, gen za protein povezan s dineinom, gen za arginin metiltransferazu. Promjena regulacije ekspresije tih gena događa se na epigenetičkom nivou promjenom razine DNA metilacije i omogućava bolju prilagodnost novonastaloj simbiozi. Također, važnu ulogu u uspostavljanju simbioze imaju i hidrofobini, proteini u staničnoj stijenci stanica gljive koji drže zajedno mikobionta i fotobionta. (Joneson, 2009.)

Horizontalni transfer gena izme u mikobionta i fotobionta još nije zabilježen, ali istraživanjima je pokazano da mikobiont i fotobiont mogu horizontalnim transferom biti recipijenti povezanih grupa gena. Transporteri amonijaka (AMT), metilamonijeve permeaze (MEP) i familija Rhesus faktora, transmembranski su proteini koji omogu uju prijenos amonijevih iona ili amonijaka. Ti su proteini istovremeno opisani u biljaka (transporteri amonijaka) i gljiva (metilamonijeve permeaze) i pokazano je da su udaljeni od transportera iz obitelji Rh faktora.

Kod fotobionta (*Asterochloris* sp.) u lišaju *Cladonia grayi* otkrivena su 3 AMT-a, sva tri pripadaju AMT1 biljnoj porodici transportera. U biljaka postoje dvije skupine amonijevih transportera. Prva skupina, AMT1, sadrži transportere koji su me usobno vrlo sli ni u svim biljkama. Druga skupina, AMT2, sadrži transportere koji su više sli ni porkariotskim nego transporterima ostalih biljaka. (McDonald i sur.,2011.)

Kod mikobionta, otkrivena su 4 transportera. Dva su sli na transporterima ostalih gljiva, no, dva su sli nija skupini 2 biljnih transportera te zbog toga maloj zajednici prokariota koja ih sadrži. Jedan od na ina na koji su gljive mogle ste i gene za transportere koji nalikuju biljnim je horizontalni transfer gena. (McDonald i sur.,2011.)

Amonijevi transporteri u gljiva pripadaju trima podskupinama one glavne koju nazivamo MEP (metilamonij-permeazna) skupina. MEP podskupina sadrži transportere koji su najslji niji biljnima, odnosno, geni za transportere te podskupine naslije eni su od kemoautotrofnog prokariota koji je bio donor gena za amonijeve transportere i kopnenim biljkama. Iako zelene alge ne sadrže transportere nalik transporterima MEP podskupine, one su svoje transportere najvjerojatnije dobile horizontalnim transferom od biljaka. (McDonald i sur., 2011.) Iako i alga i gljiva dijele biljke kao poveznicu u horizontalnom transferu, transporteri gljive i alge me usobno nisu sli ni.

Postavlja se pitanje je li horizontalni transfer gena izme u mikobionta i fotobionta zaista nužan. Mogu e je da simbionti jednostavno uspijevaju izvu i ono najbolje iz evolucije triju carstava. Možda se prilagodbe mikobionata i fotobionata o ituju u spajanju odvojenih evolucijskih puteva prilago avanja cijanobakterija, zelenih algi i gljiva razli itim uvjetima okoliša bez potrebe za sinkronizacijom ili ujedna avanjem genoma tih triju skupina organizama u jedinstvenoj zajednici. Ovisi li uspješnost opstanka lišajeva kao simbiotskih organizama i brzina njihove evolucije zaista o horizontalnom transferu gena izme u fotobionta i mikobionta tek e pokazati nova istraživanja.

Jedan od razloga zbog kojeg nije moguće detektirati horizontalni transfer gena kod lišajeva mogao bi biti i nemogućnost uzgoja i nepostojanje mikobionata kao samostalno živu ih organizama u okolišu. Ako ne postoji referentni genom, genom mikobionta ne može se ni sa kim usporediti i ne mogu se detektirati potencijalne razlike u sekvencama i otkriti sekvence koje su potencijalno prenesene horizontalnim transferom gena. Isto vrijedi i za genom fotobionta.

4. VERTIKALNI TRANSFER GENA (RAZMNOŽAVANJE LIŠAJEVA)

Vertikalni transfer gena predstavlja prijenos gena s roditelja na potomstvo. Takav transfer u najvećoj mjeri slijedi Mendelove zakone naslijeđivanja a događa se samo između jedinki iste vrste. Za razliku od horizontalnog transfera koji može rezultirati uvođenjem fenotipa u neku vrstu u kojoj dotad taj fenotip nije bio prisutan, vertikalni transfer za posljedicu može imati samo izmjene već prisutnih fenotipova u određenoj vrsti, a te izmjene događaju se postupnim nakupljanjem točkastih mutacija, genskim preslagivanjima, genskim duplikacijama. Vertikalni transfer gena kod lišajeva može se objasniti spolnim i nespolnim načinom razmnožavanja.

Jedna od osnovnih značajki svih živih organizama jest reprodukcija. Postoje različiti načini razmnožavanja, a generalno se dijele u spolno i nespolno razmnožavanje. Oba tipa razmnožavanja dobro su proučeni kod biljaka, životinja, bakterija, čak i protista, no razmnožavanje lišajeva u mnogim je segmentima još uvijek nerazjašnjeno. Jedno od takvih područja reprodukcije lišajeva bio je relativni značaj spolnog u odnosu na vegetativno razmnožavanje. Odgovor na to pitanje, usprkos mnogim istraživanjima, nije jединствен.

Poznato je da spolno razmnožavanje organizmima omogućuje povećanje broja različitih genotipova unutar populacije te na taj način povećava vjerojatnost za opstanak u kompetitivnim okruženjima, dok nespolno predstavlja uspješnu evolucijsku strategiju za opstanak u kompetitivnim, ali stabilnim staništima. (Walser i sur.,2004.)

Način razmnožavanja, osim na opstanak vrste na određenom staništu, utječe i na genetičku strukturu populacije lišajeva. To posebice ovisi o načinu rasprostranjivanja fotobionta. U nesimbiontskim populacijama algi i cijanobakterija, razmnožavanje može biti nespolno, zoosporama i aplanosporama, te spolno, stvaranjem gameta. U simbiozi s mikobiontom, nije zabilježeno spolno razmnožavanje, a nespolno je veoma rijetko. Vegetativno razmnožavanje lišaja predstavlja prijenos cijele stanice alge ili cijanobakterije iz

parentalnog talusa, zajedno s hifama gljive na neko novo podru je na kojem se razvija novi talus, geneti ki jednak parentalnom. Fotobiont je takvim na inom razmnožavanja vertikalno prenesen na potomstvo. Horizontalni prijenos fotobionta doga a se kada se mikobiont razmnožava spolno. Posebne strukture na talusu stvaraju askuse ispunjene sporama koje se mogu raznositi vjetrom, vodom, životinjama. Da bi se tada razvio lišaj, treba se dogoditi spajanje spore iz parentalnog talusa s kompatibilnim fotobiontom na novom staništu. Na i pogodnog fotobionta nije lako, stoga je spolno razmnožavanje i horizontalni prijenos fotobionta manje u estao na in razmnožavanja, ograni en na manji broj vrsta.

4.1. Spolno razmnožavanje lišajeva

Dosadašnje znanje o u estalosti i uspješnosti održavanja vrste spolnim razmnožavanjem, može navesti na pomisao da je kod vrsta lišajeva koje se mogu spolno razmnožavati vegetativno razmnožavanje nepotrebno, i da strukture za vegetativno razmnožavanje nisu prisutne na steljkama tih lišajeva. No, osim spolnim na inom, ti lišajevi razmnožavaju se i vegetativnim na inom, što se može zaklju iti iz prisutnosti struktura poput apotecija i peritecija na njima. Samo spolno razmnožavanje lišajeva najbolje je objasniti na primjeru spolnog razmnožavanja gljiva koje mogu stvarati lišajeve.

Gljive iz razreda *Ascomycetes* ne mogu se podijeliti na muške i ženske jedinke zato što svaki haploidni micelij može stvoriti i muške i ženske gamete (mikrokonidije i makrokonidije-stanice za spolno razmnožavanje) ali i gametangije (askogonije-stanice za nespolno razmnožavanje). Spolno razmnožavanje tih gljiva pod kontrolom je MAT gena (engl. MAT-mating type). U heterotali njih vrsta (nemaju sposobnost samooplodnje), postoje dva alela tog gena: *MAT 1-1* i *MAT 1-2*. Budu i da postoji velika razlika između ta dva alela unutar iste vrste, za njih se koristi naziv idiomorfi. Heterotali ne vrste mogu se spolno razmnožavati samo s jednikama koje nose komplementaran idiomorf. Kod homotali njih vrsta (imaju sposobnost samooplodnje) postoji jedan idiomorf tog gena koji može biti kombinacija idiomorfa *MAT 1-1* i *MAT 1-2*, ili se zadržava samo jedan od ta dva idiomorfa, a drugi se gubi. Za spolno razmnožavanje homotali njih jedinki nije potreban komplementaran idiomorf u drugoj jedinci. (Nash, 2008.)

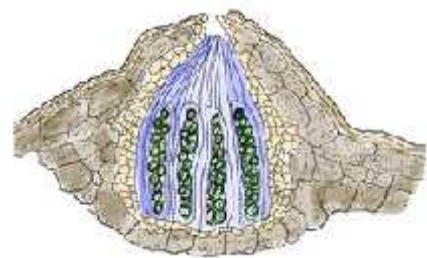
MAT geni kodiraju transkripcijske faktore koji reguliraju rane i kasne stupnjeve spolnog ciklusa, od izabiranja kompatibilnog partnera do razvoja rasplodnih struktura na novom talusu. *Mating type* regija organizirana je kao heterokromatin i na njoj postoje jedinstveni obrasci histonske metilacije koji diktiraju životni ciklus jedinke (spolni/nespolni).

Evolucija MAT gena vrlo je brza, no oni trebaju biti konzervirani unutar vrste. (Nash, 2008.) *MAT 1-1* kodira protein s konzerviranim *alpha-box* motivom, a *MAT 1-2* kodira protein koji sadrži konzerviranu DNA-vezuju u domenu koja se zove *HMG box*. Istraživanja su pokazala evolucijsku povezanost tih dvaju motiva iako nema velike sličnosti u sekvencama. Prisutnost samo jednog od tih dvaju idiomorfa unutar jedne populacije može ukazivati na izrazito vegetativno razmnožavanje. (Singh i sur., 2012.)

Spore mikobionta u lišaju smještene su u askusima koji se nalaze u himeniju. Himenij je sloj tkiva u himenoforu rasplodnog tjelešca (askokarpa ili bazidiokarpa). (Slika 6.) Rasplodna tjelešca lišaja najčešće su apoteciji i periteciji kod lišaja koji mikobiont pripada razredu *Ascomycetes*, te bazidiokarp kod lišaja s mikobiontom iz razreda *Basidiomycetes*. (Slika 7.) U svakom postojeci askusu nalaze se 4 haploidne jezgre koje se podijele najčešće još jednom tako da u konačnici svaki askus sadrži po 8 jezgara. Oko askusa nalaze se sterilne izdužene nitaste hife koje se zovu parafize. One imaju dvostruku ulogu. Prva uloga je izlučivanje mukoze, a druga je sinteza pigmenta u vršnim stanicama. Kako askospore sazrijevaju, tako se u rasplodnom tjelešcu nakupljanjem vode u mukozi povećava pritisak na askuse. Kada askospore dovoljno sazriju a pritisak mukoze na askuse postane dovoljno velik, askusi pucaju oslobađajući zrele askospore. Diploidizacija askospora u lišajevima događa se samooplodnjom ili stranooplodnjom.



Slika 6. Askospore roda *Pertusaria*
(izvor: www.anbg.gov.au)



Slika 7. Peritecij
(izvor: www.upload.wikimedia.org)

Oslobodjene diploidne askospore mogu se rasprostranjivati na različite načine, najčešće vjetrom i vodom. Da bi se iz diploidne askospore razvio lišaj, mikobiontski partner, askospora, mora doći u doticaj s kompatibilnim fotobiontskim partnerom. Razvoju pravog

talusa prethodi pretalusno stanje koje mikobiont može formirati i s nekompatibilnim fotobiontom. Što je pokreta za daljnji razvoj talusa, još uvijek nije u potpunosti poznato. No, otkriveno je da rane faze razvoja pokazuju veliku polarnost te slojevitost u grafi, pa su stanice alge u tim najranijim fazama smještene u sloju s najviše zraka. (Nash, 2008.)

4.1.1. Utjecaj spolnog razmnožavanja na geneti ku strukturu populacije lišajeva

Različitosti u genomima važne su zbog toga što one omogućuju brže prilagodbe organizama na promjene u okolišu i veći postotak preživljavanja. Što je manja genetička varijabilnost populacije, to je manja vjerojatnost njezinog opstanka i odvijanja evolucijskih procesa. (Domaschke i sur., 2012.) Varijabilnost genoma mikobionta postiže se rekombinacijom i mutacijom, dok kod fotobionta prevladavaju mutacije. (Dal Grande i sur., 2012.) Dodatna genetička diferencijacija populacije lišajeva postiže se spolnim načinom razmnožavanja. Vrste sa spolnim načinom razmnožavanja u estale su na otvorenim, poljoprivredno obradivim površinama sa ekstremno ekološkim promjenama. Lišajevi s nespolnim načinom razmnožavanja najčešće su ograničeni na šumska područja u kojima ekološke promjene nisu u estale. (Singh i sur., 2012.)

Raspored genotipova unutar populacije uvjetovan je sljedećim: vrstom mikobionta koji ima preferentnog fotobionta s kojim ostvaruje simbiozu (kod nekih je ta kompatibilnost više izražena, a kod nekih manje), nadmorskom visinom, biljnom zajednicom na nekom staništu, stupnjem zagađenosti zraka, dominantnim načinom razmnožavanja.

U populacijama sa spolnim načinom razmnožavanja, zabilježeno je rasprostranjivanje na velike udaljenosti koje je olakšano malom veličinom spora, a ono omogućuje naseljavanje još nenaseljenih vulkanskih otoka, zagađenih urbanih područja u kojima dugo nije zabilježena prisutnost lišajeva i uništenih šuma. (Werth i sur., 2008.)

Vrsta *Ramalina menziesii* nastanjuje sjevernoamerički kontinent i raste na različitim vrstama hrasta. Utjecaj na njezinu genetičku strukturu ima prije svega struktura samog fotobionta. Fotobiont tog lišaja je *Trebouxia decolorans*. Vegetativno razmnožavanje fotobionta dok je u talusu lišaja nije uobičajeno. Međutim, do njega može doći i ukoliko se fotobiont rasprostrani herbivornim puževima, a dovoljna vlažnost okoliša omogućuje stvaranje pokretnih zoospora. Fotobiont određuje prostornu raspoređenost genotipova tog lišaja. Istraživanjem je pokazano da su prisutne varijacije u genotipu fotobionta uvjetovane vrstom hrasta na kojem lišaj raste. Tri vrste hrasta, *Quercus agrifolia*, *Q. douglasii* i *Q. lobata* pružaju različite uvjete za rast i ovisno o njima, različiti genotipovi fotobionta prisutni su na

različitim vrstama hrasta. (Werth i sur., 2010.) Ovakva ekološka specijaliziranost na različite vrste biljaka na kojima lišaj raste, može biti ključni evolucijski proces koji omogućuje veliku rasprostranjenost vrste *Ramalina menziesii*.

Velika genetička razlika između mikobionta i fotobionta u jedinkama koje rastu na različitim podlogama ukazuje na to da je dominantni način razmnožavanja mikobionta spolni, a fotobiont se prenosi horizontalno. Postoje iznimke kada je moguća kombinacija vegetativnog razmnožavanja mikobionta i horizontalnog prijenosa fotobionta. Ukoliko se lišaj razmnoži nespolno, u ranim fazama stvaranja novog talusa može doći do zamjene postojećeg fotobionta nekim novim iz populacije algi ili cijanobakterija u novom staništu. (Werth i sur., 2010.) Takva pojava također dovodi do nepodudarnih genotipova fotobionta i mikobionta.

4.2. Nespolno razmnožavanje lišajeva

Najjednostavniji način vegetativnog razmnožavanja lišajeva je fragmentacijom talusa. U fragmentima se nalaze stanice gljive sa stanicama alge ili cijanobakterije i one su sposobne razviti novi talus, genetički jednak parentalnom. Lišajevi stvaraju posebne rasplodne strukture u kojima se nalaze spore sastavljene od jedne stanice alge ili cijanobakterije zajedno s hifama mikobionta. Strukture koje su najučestalije i koje omogućuju najlakše rasprostranjivanje spora nazivaju se izidiji i soraliji. (Slika 8.) Izidiji su prisutni na lišajevima rodova *Parmotrema* i *Peltigera*. Mogu imati različite oblike, oblik šalice, koralja, te mogu biti jednostavni ili razgranati. Proizlaze iz produžeci kortikalnog dijela talusa, a osim što povećavaju ukupnu fotosintetski aktivnu površinu talusa, poboljšavaju izmjenu plinova između atmosfere i talusa, te se lako kidaju s talusa i tako omogućuju rasprostranjivanje. Sorediji su građeni od jedne ili nekoliko stanica algi ili cijanobakterije obavijene hifama gljive. Mogu biti difuzno smješteni po površini talusa ili u soralijima, strukturama koje nastaju proliferacijom medularnog sloja algi. Karakteristični su za rasprostranjivanje soredijima je u kapljicama vode. Najčešće su prisutni na talusima lišajeva iz rodova *Lobaria* i *Melanelia*.



Slika 8. Sorolij vrste *Lobaria pulmonaria*. (izvor: www.photomacrography.net)

Vegetativni na in razmnožavanja pogodniji je zbog toga što su u vegetativnim sporama prisutni i mikobionti i fotobionti, pa je veća vjerojatnost uspješnog razvoja novog talusa. No, vegetativne spore puno su teže od spolnih pa je njihovo rasprostranjivanje ograničeno na manje udaljenosti. Kao posljedica toga, genotipovi određene populacije postaju uniformni na nekom području.

Ukoliko nema velikih ekoloških promjena na staništu tih populacija, one se time na inom mogu razmnožavati vrlo dugo i uspješno. No, postoje načini za rasprostranjivanje lišajeva na veće udaljenosti klonalnom propagacijom. Ti načini su herbivorni beskralješnjaci, snažni vjetrovi i kiše. (Walser, 2004.) Postoje pretpostavke da je vegetativno razmnožavanje evolucijska strategija kojom pojedina individua želi povećati svoj udio u populaciji na određenom području. (Walser, 2004. prema Scheidegger, 1995.) To kasnije može dovesti do stvaranja i spolnih i nespolnih spora koje se kompenzira dotadašnjem rasprostranjivanju na manje udaljenosti. (Walser, 2004. prema Scheidegger i sur., 1995.)

4.2.1. Utjecaj nespolnog razmnožavanja na genetičku strukturu populacije lišajeva

Lobaria pulmonaria modelna je vrsta u istraživanju vegetativnog razmnožavanja lišajeva. (Slika 9.) Specifična je u odabiru svog fotobionta, zelene alge *Dictyochochloropsis reticulata*, stoga je njezin dominantni na in razmnožavanja nespolni. *Lobaria* osim *D. reticulata* u svom talusu može sadržavati i cijanobakteriju. Ukoliko se razmnožava spolno, za ponovni razvoj talusa na novom staništu, trebala bi uspješno pronaći i primarnog i sekundarnog fotobionta. To je teže ostvarivo nego uspješno se razmnožiti vegetativnim načinom pa se zato pojavljuje puno rjeđe. No, kada dođe do rasprostranjivanja na velike

udaljenosti, ono se odvija i spolnim i nespolnim sporama. (Wagner i sur.,2005.) Raste u planinskim područjima umjerenih zona, a česta je u švicarskim šumama na planinama jurske starosti.



Slika 9. *Lobaria pulmonaria* (izvor:<http://vdpg2012.blogspot.com>)

Istraživanjima je pokazano da je geneti ka struktura populacija *Lobarie* prije svega uvjetovana vegetativnim načinom razmnožavanja. Odnosno, različitost genotipova na određenom području mala je zbog klonalne propagacije. To jedinkama omogućuje stvaranje i prijenos velikog broja lokalno dobro adaptiranih spora, odnosno gena u njima. U takvim populacijama otkriveno je da se prilagođavanja na uvjete okoliša zbivaju rekombinacijom i mutacijama. U mikobiontu su zastupljene rekombinacija i mutacije, a u fotobiontu mutacije. (Dal Grande *et al.*, 2012.) Bolja adaptiranost na uvjete nekog područja može se ostvariti i uvođenjem novih genotipova na to područje, rasprostranjivanjem na velike udaljenosti. Ti su događaji rijetki, ali mogući.

Utjecaj na oblikovanje geneti ke strukture populacije koja se preferentno nespolno razmnožava, imaju i brojni ekološki čimbenici. Za održavanje populacije *Lobarie pulmonarie* na nekom području važno je da ne dolazi do velikih promjena u staništima, na primjer uništavanjem šume požarom ili sjenom te zagađivanjem zraka. Stanište *Lobarie* određeno je i nadmorskom visinom, ti lišajevi rastu u planinskim područjima. Evolucijski gledano, mala varijabilnost u genotipovima jedne populacije može biti posljedica *bottleneck* efekta, izolacije populacije te male sposobnosti populacije da rekolonizira neko područje.

4.3. Značaj istraživanja promjena genetičkih struktura unutar populacija lišajeva

Dosadašnja istraživanja pretežno su se bavila otkrivanjem koliko su važni odnosi spolnog i nespolnog razmnožavanja unutar populacije lišajeva. No i dalje se ne može sa sigurnošću zaključiti da je jedan način razmnožavanja važniji od drugoga. Oba načina imaju svojih prednosti i nedostataka, ovisno o kojoj se vrsti lišaja radi. Vrste koje rastu na staništima koja imaju kontinuiranost postojanja, odnosno nisu bila podvrgnuta uništavanjima i promjenama, najčešće se razmnožavaju vegetativnim sporama. Spolni način razmnožavanja zastupljen je kod vrsta koje rastu na staništima podložnim brzim i velikim promjenama.

Istraživanjem vertikalnog transfera gena dobiva se osnova za razvijanje konzervacijskih strategija. Kontinuirano provođenje istraživanja genetičkih struktura otkriva promjene do kojih može doći zbog promjene uvjeta okoliša. Buduća istraživanja horizontalnog transfera pokazala su na koji način promjene tog prijenosa gena mogu omogućiti razvoj novih i izmjenu postojećih konzervacijskih strategija. Ukoliko se dogodi promjena sa spolnog na vegetativni način razmnožavanja, to može biti znak da su ekološke promjene ugrozile populaciju i da ona svoj opstanak pokušava zaštititi promjenom načina razmnožavanja. Promjena s vegetativnog na spolni način razmnožavanja može biti znak povoljnih ekoloških promjena u staništu. Razvoj potencijalnih konzervacijskih strategija ovisi o smjeru promjena u vertikalnom transferu gena.

5. ZAKLJUČAK

Evolucija genoma živih organizama odvija se na različite načine, a simbiotski organizmi kao što su lišajevi prolaze kroz sve procese. Tri carstva – eukariota, procari i procari – i potencijalnih mikobionta i fotobionta, a svako carstvo karakteriziraju određeni procesi koji dovode do evolucije genoma organizama tog carstva. Lišajevima je najvjerojatnije horizontalnim transferom gena osigurana evolucija u najboljem mogućem smjeru svakog od triju carstava koji ih grade zasebno, a vertikalnim transferom gena osigurane su najbolje prilagodbe na trenutne uvjete u kojima se lišajevi nalaze. Horizontalni transfer gena kod cijanobakterija, algi i gljiva osigurava lišajevima prednosti u duljim periodima te ima utjecaj na formiranje najbolje moguće kombinacije mikobionta i fotobionta dostupnih u okolišu, a vertikalni transfer gena omogućuje im potrebne brze prilagodbe na moguće brze promjene okoliša u kojemu se nalaze.

6. LITERAURA

Archibald J M, Rogers M B, Toop M, Ishida K, Keeling P J Lateral gene transfer and the evolution of plastid-targeted proteins in the secondary plastid-containing alga *Bigeloviella natans*. PNAS **100** (13), 7678-7683 (2003)

Boto L (2009) Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges. Proc. R. Soc. B (2010) 277, 819–827, doi:10.1098/rspb.2009.1679

Choi I G, Kim S H Global extent of lateral gene transfer. PNAS **104**, 4489-4494 (2007)

Cohen O, Gophna U, Pupko T The complexity hypothesis revisited: Connectivity rather than function constitutes a barrier to horizontal gene transfer. Mol. Biol. Evol. **28** (4), 1481–1489 (2011)

Dal grande F, Widmer I, Wagner H.H, Scheidegger C (2012) Vertical and horizontal photobiont transmission within populations of a lichen symbiosis. Molecular Ecology (2012) doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05482.x

Domaschke S, Fernandez-Mendoza F, Garcia M, Martin M, Printzen M&C (2012) Low genetic diversity in Antarctic populations of the lichen-forming ascomycete *Cetraria aculeata* and its photobiont. *Polar Research* 2012, **31**, 17353, doi: 10.3402/polar.v31i0.17353

Gogarten J P, Doolittle W F, Lawrence J G Prokaryotic evolution in light of gene transfer. Mol. Biol. Evol. **19** (12): p. 2226-38. (2002)

Heinemann, J. A. and Sprague, G. F., Jr. Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast. *Nature* **340**, 205-209 (1989)

Honegger R Simon Schwendener (1829–1919) and the Dual Hypothesis of Lichens. The Bryologist **103** (2), 307-313 (2000)

Jain R, Rivera M C, Lake J A Horizontal gene transfer among genomes: The complexity hypothesis. PNAS **96** (7), 3801-3806 (1999)

Joneson SL, autorica. The Molecular Biology of Lichen Symbiosis and Development. Durham: Duke University; 2009. (citirano 21.6.2013.). Dostupno na:

http://dukespace.lib.duke.edu/dspace/bitstream/handle/10161/1052/D_Joneson_Suzanne_a_200904.pdf?sequence=1

Lepp H, autor. Reproduction and dispersal. Canberra: Australian National Botanic Gardens and Australian National Herbarium; 2012. (citirano: 21. 6. 2013.) Dostupno na: <http://www.anbg.gov.au/lichen/reproduction-dispersal.html>

McDonald T R, Dietrich F S, Lutzoni F Multiple Horizontal Gene Transfers of Ammonium Transporters/Ammonia Permeases from Prokaryotes to Eukaryotes: Toward a New Functional and Evolutionary Classification. *Mol Biol Evol.* **29** (1), 51–60 (2011)

Nash, Thomas H., *Lichen Biology*, Cambridge University Press, 2008, pp 1-35, 56-67, 94-103

Ochman H, Lawrence J G, Groisman E A Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature* **405**, 299-304 (2000)

Partl A, autorica. Lišajevi: Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Zagreb: Državni zavod za zaštitu prirode; 2009. (citirano: 21.6.2013.) Dostupno na: http://www.dzzp.hr/dokumenti_upload/20100317/dzzp201003171109370.pdf

Shi T, Falkowski P G Genome evolution in cyanobacteria: The stable core and the variable shell. *PNAS* **105** (7), 2510-2515 (2008)

Singh G, Dal Grande F, Cornejo C, Schmitt I, Scheidegger C (2012) Genetic Basis of Self-Incompatibility in the Lichen-Forming Fungus *Lobaria Pulmonaria* and Skewed Frequency Distribution of Mating-Type Idiomorphs: Implications for Conservation. *PLoS ONE* **7** (12): e51402. doi:10.1371/journal.pone.0051402

Wagner H, Werth S, Kalwij J, Bolli J, Scheidegger C (2005) Modelling forest recolonization by epiphytic lichen using a landscape genetic approach. *Landscape Ecology* (2006) **21**:849-865 doi:10.1007/s10980-005-5567

Walser J-C (2003) Molecular evidence for limited dispersal of vegetative propagules in the epiphytic lichen *Lobaria pulmonaria*. *American Journal of Botany* **91** (8):1273-1276. 2004.

Walser J-C, Guerli F, Holderegger R, Kuonen D, Scheidegger C (2004) Recombination and clonal propagation in different populations of the lichen *Lobaria pulmonaria*. *Heredity* (2004) **93**, 322-329

Werth S, Sork V (2008) Local genetic structure in a North American epiphytic lichen, *Ramalina menziesii* (2008) *American Journal of Botany* **95** (5):568-576.2008. doi: 10.3732/ajb.2007024

Werth S, Sork V (2010) Identity and genetic structure of the photobiont of the epiphytic lichen *Ramalina menziesii* on three oak species in southern California. *American Journal of Botany* **97** (5):821-830.2010. doi: 10.3732/ajb.0900276

7. SAŽETAK

Mnoge se pojave u evoluciji živog svijeta mogu objasniti simbiozom. Simbioza kao pojava u živom svijetu dala je mnoge prednosti samim organizmima koji u nju stupaju, ali je i neposredno ubrzala evoluciju živog svijeta. Kao posljedica endosimbioze izme u heterotrofnih eukariota i autotrofnih prokariota javlja se horizontalni transfer gena, proces koji se danas smatra ključnom komponentom evolucije genoma živih organizama. Horizontalni transfer gena proces je izmjene gena između organizama različitih vrsta. Takav način izmjene gena organizmima daje selektivnu prednost kroz stjecanje novih metaboličkih svojstava, patogenosti, otpornosti na antibiotike, zauzimanje novih ekoloških niša, specijaciju. Horizontalni transfer gena javlja se u sve 3 skupine organizama koje formiraju lišajeve. Gljive su stekle nove metaboličke puteve, patogenost i sposobnost zauzimanja novih ekoloških niša; cijanobakterije su stekle sposobnost fiksiranja dušika; a neke zelene alge putem horizontalnog transfera gena stekle su sposobnost fotosintetiziranja. Horizontalni transfer gena između samih simbiota nedovoljno je istražen i zbog toga se ne može sigurno potvrditi da postoji. No, postoje dokazi da se određeni geni mikobionta i fotobionta mijenjaju prilikom uspostave simbioze između gljive i alge. Vertikalni transfer gena podrazumijeva prijenos gena s roditelja na potomstvo, a kod lišajeva se odvija spolnim i nespolnim načinom razmnožavanja. Ekološki uvjeti uvelike utječu na genetsku strukturu populacije lišajeva. Ovisno o genetici i strukturi, odnosno broju različitih gena u populaciji, određena je i brzina evolucije tih simbiotskih organizama te uspješnost i rasprostranjenost njihovog opstanka. Za lišajeve, oba transfera imaju prednosti. Horizontalni transfer omogućuje prilagodbe u duljim vremenskim periodima i utječe na odabir fotobionta, a vertikalni omogućuje brze prilagodbe na iznenadne promjene okoliša.

8.SUMMARY

A great number of phenomena occurring in the living world can be explained through the symbiosis. Not only has the symbiosis given many advantages to the organisms which are parts of it, but also has accelerated the evolution of the living world. Horizontal gene transfer emerged as a consequence of endosymbiosis between the heterotrophic eukaryotes and the autotrophic prokaryotes. It is a process through which genes are exchanged between distantly related species. It is a key component of the genome evolution in the living organisms. Horizontal gene transfer gives the selective advantage to the organisms, providing the new metabolic pathways, antibiotic resistance, inhabitation of new ecological niches, speciation. Horizontal gene transfer occurs in all three groups of the organisms which can make a lichen. Fungi have acquired new metabolic synthetic pathways, pathogenicity and capability of inhabiting new ecological niches through horizontal gene transfer; cyanobacteria are capable of nitrogen fixation because of horizontally transferred genes; green algae have received genes that enable them to photosynthesize. Horizontal gene transfer between symbionts is still quite unknown and not existing. There is evidence though, which tells that there are certain genes being upregulated during the phase of forming symbiosis between algae and fungi. Vertical gene transfer is transfer of genes from parents to offspring by means of vegetative and sexual reproduction in lichens. Ecological conditions impact the genetic structure of lichen populations a lot. The speed of lichen evolution and their survival and prevalence of their existence depends on the genetic structure of populations. For lichens, both transfers have advantages. Horizontal gene transfer provides long-term adaptations and it has an impact on choosing the photobiont. Vertical gene transfer provides fast adaptations to the sudden changes in the environment.