

Biologija i ekologija dugoživaca (Ecdysozoa: Tardigrada)

Habazin, Siniša

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

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:217:556297>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-24**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Biologija i ekologija dugoživaca (Ecdysozoa: Tardigrada)
Biology and Ecology of Tardigrades (Ecdysozoa: Tardigrada)

ZAVRŠNI SEMINARSKI RAD

Siniša Habazin

Preddiplomski studij znanosti o okolišu
(Undergraduate Study of Environmental Sciences)

Mentor: doc. dr. sc. Renata Matoničkin Kepčija

Zagreb, 2012.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.2. Obrazloženje teme.....	2
2. Morfologija, anatomija i fiziologija dugoživaca.....	3
2.1. Morfologija dugoživaca.....	3
2.2. Anatomija i fiziologija dugoživaca.....	9
3. Evolucija i filogenetski položaj dugoživaca.....	19
3.1. Paleontološki dokazi evolucije dugoživaca.....	19
3.2. Molekularno–biološki dokazi evolucije dugoživaca i mogući filogenetski položaj.....	20
4. Klasifikacija dugoživaca.....	22
4.1. Razred: Heterotardigrada.....	22
4.2. Razred: Mesotardigrada.....	23
4.3. Razred: Eutardigrada.....	23
5. Kriptobioza u dugoživaca.....	25
5.1. Anhidrobioza.....	25
5.2. Kriobioza.....	26
5.3. Ostale forme kriptobioze.....	27
6. Ekologija dugoživaca.....	28
6.1. Staništa.....	28
6.2. Prehrana dugoživaca i uloga u hranidbenim mrežama.....	30
7. Zaključak.....	31
8. Literatura.....	32
9. Sažetak.....	37
10. Summary.....	37

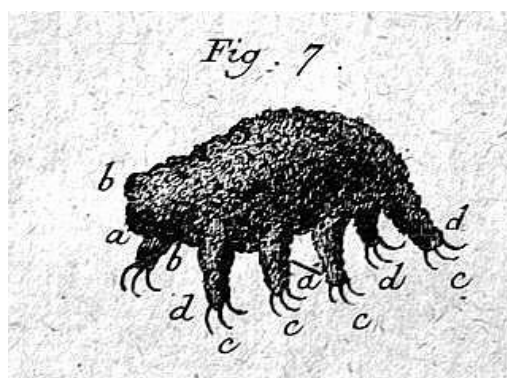
Grafički prilozi: 1 tablica, 1 grafikon, 28 crteža i fotografija.

1. Uvod

Dugoživci (lat. Tardigrada; engl. tardigrades, water bears, moss piglets; njem. Bärtierchen) su protostomični bilateralno simetrični beskralježnjaci. Mikroskopske su veličine koja varira od 0,1 do 1,5 mm, i široke rasprostranjenosti po svim biogeografskim regijama. Izgledom tijela i sporim kretanjem koje podsjeća na medvjede, dobili su i ime (lat. tardus – spor, trom).

Uz ostale oku nevidljive organizme, dugoživci su u različitim uzorcima uočeni vrlo brzo nakon konstrukcije jednostavnog svjetlosnog mikroskopa u 17. stoljeću. Za prvo objavljeno otkriće i crteže dugoživaca koji potječu iz 1773., zaslužan je njemački pastor Johann August Ephraim Goeze (Slika 1.). Talijanski prirodoslovac i svećenik Lazzaro Spallanzani je 1776. za dugoživce je prvi upotrijebio termin „il Tardigrado“ koji se zadržao do danas (Spallanzani, 1776). Njegova detaljna opažanja o dugoživicima i jasan zaključak da se radi o organizmima građom različitim i brojnošću u promatranim uzorcima manjom od kolnjaka (Rotifera), postavila su temelj svim kasnijim tardigradološkim istraživanjima.

Sistematski položaj taksona Tardigrada (Doyère, 1840) je varirao, tako da su bili svrstavani u naljevnjake (Infusoria, obs.), kolutićavce (Annelida) i člankonošce (Arthropoda). Tek je sredinom 20. stoljeća načinjen veliki iskorak u sistematici dugoživaca kada oni dobivaju status koljena (Ramazzotti, 1962). Recentni podaci navode da je opisano oko tisuću vrsta dugoživaca, a neprekidno se otkrivaju nove.



Slika 1. Crtež dugoživca J. A. E. Goeze-a iz 1773. (izvor: www.baertierchen.de).

1.2. Obrazloženje teme

Obzirom na veličinu, dugoživci spadaju u meiofaunu, te zajedno sa mnogim pripadnicima Protista, Cnidaria, Turbellaria, Nematoda, Rotifera, Crustacea, Loricifera i Gastrotricha čine znatan dio faune i biomase različitih staništa. Ulozi meiofaune u energetici ekosustava pridaje se sve veći značaj, no ona je još uvijek nedovoljno razjašnjena pa je stoga sigurno da će istraživanja dugoživaca i njihovog položaja u hranidbenim mrežama doprinjeti poznavanju te problematike (Hakenkamp & Morin, 2000).

Neopravdana kategorizacija dugoživaca kao „minornog i opskurnog koljena“ od strane nekih zoologa, poteškoće u uzorkovanju, prepariranju i determinaciji, težak uzgoj u uvjetima *in vitro* i ekonomska beznačajnost usporavaju prikupljanje informacija o njima. Ipak, intenzifikacija njihova istraživanja porasla je znatno u posljednjih trideset godina; poglavito zbog razvoja naprednih mikroskopskih, histoloških i biokemijskih metoda (Nelson, 2001).

Nagađa se da je sposobnost bdeloidnih kolnjaka koji se nakon isušivanja mogu vratiti u normalno stanje kada se vrate u vodeni medij, opazio još A. van Leeuwenhoek u prvim istraživanja uz pomoć mikroskopa uopće. Istu takvu sposobnost dijele i dugoživci preživljavajući nepovoljne uvjete u okolišu. Mnogo kasnije otkrivena je i njihova otpornost na ekstremne doze radioaktivnog zračenja, visoki odnosno niski tlak i temperaturu, isušivanje i otopine povišene osmolarnosti. Sve te osobine nazvane su skupno kriptobioza ili anabioza, no mehanizmi kojima to dugoživci postižu nisu do kraja objašnjeni. Nadalje, filogenija Arthropoda i dalje je predmetom rasprave, a određeni radovi pokazuju da bi upravo genom dugoživaca mogao pomoći u postavljanju ispravnih srodstvenih odnosa i traženju ishodišne skupine toga koljena (Nelson, 2002).

U ovom seminarskom radu ukratko će biti prikazani najvažnije spoznaje proizašle iz suvremenih istraživanja biologije i ekologije dugoživaca. Najprije će biti izložena morfologija, anatomija i fiziologija dugoživaca, a zatim i njihova evolucija i filogenetski položaj između ostalih skupina. Naredno poglavlje bavit će se klasifikacijom gdje će između ostalog biti iznesen i pregled nekoliko najpoznatijih vrsta. Kriptobioza kao najintragantnija osobitost dugoživaca bit će također zasebno obrađena. Posljednje poglavlje odnosit će se na njihovu ekologiju – prehranu, rasprostranjenost i trofičku ulogu u ekosustavima sa osvrtom na neke praktične primjene proizašle iz poznavanja života ove, za sada još relativno slabo istražene, skupine životinja.

2. Morfologija, anatomija i fiziologija dugoživaca

2.1. Morfologija dugoživaca

2.1.1. Veličina i oblik tijela

Kao što je u uvodu spomenuto, dugoživci su maleni organizmi spljošteni s ventralne, a konveksni s dorzalne strane. Veličina im varira ovisno o različitim autorima, ali ne prelazi 2 mm kod odraslih jedinki. Tipični primjerci veličine su od 100 do 150 μm (Ruppert *et al.*, 2004). Omjer duljina/širina tijela varira od 3,5/1 do 5/1. Tijelo im je cilindrična oblika, bilateralno simetrično i podijeljeno na pet segmenata koji nose lokomotorne tjelesne privjeske – lobopodne nožice (Slika 2.). Prvi segment podudara se s glavom, sljedeća tri sa tri para nožica i posljednji, peti ili terminalni s četvrtim parom nožica. Iznimno, kod nekih rodova (*Hexapodibius*, *Itaquascon*) četvrti je par nožica reduciran ili ga nema.

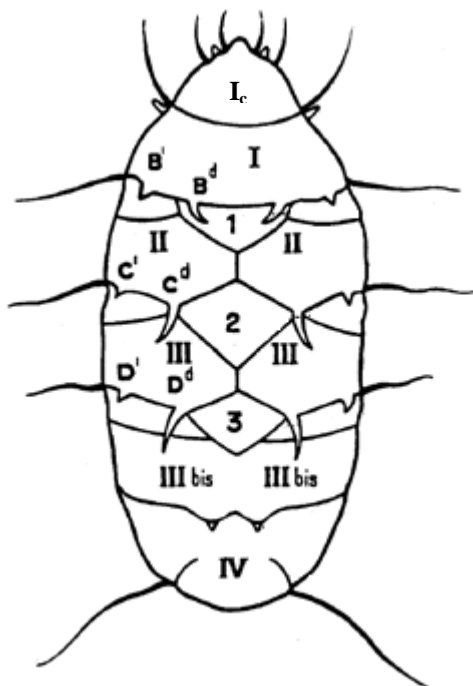


Slika 2. Opći izgled tijela dugoživca (SEM snimka) (izvor: <http://www.ouramazingplanet.com>).

2.1.2. Epiderma i kutikula

Tijelo dugoživca pokriva tanka jednoslojna epiderma sačinjena od spljoštenih stanica s velikim jezgrama i vakuolama. Kao i neka druga tkiva dugoživaca, epiderma je eutelična i, osim što izlučuje kutikulu, služi kao spremište rezervnih tvari te otpadnih produkata metabolizma (Baumann, 1922).

Kutikula ima zaštitnu ulogu i građena je od endokutikule, mezokutikule, egzokutikule i epikutikule. Njezin kemijski sastav nije potpuno definiran budući da neki autori nisu uspjeli dokazati prisutnost hitina (Baccetti & Rosati, 1971), dok drugi jesu (Bussers & Jeuniaux, 1973) te se stoga drži da je on vrlo složen i uključuje polisaharide, lipide, glikoproteine, mukopolisaharide i lipoproteine (Ruppert *et al.*, 2004). Obzirom na kutikulu, dugoživci se dijele na oklopljene i neoklopljene ili „gole“, od kojih prva skupina uključuje samo porodice Stygarctidae (morski) i Echiniscidae (kopneni). Oklopljeni dugoživci imaju kutikulu s dorzalne, a katkada i s ventralne strane, podijeljenu na pločice čiji je broj, veličina i raspored jedno od ključnih determinacijskih svojstava (Slika 3.).



- I_c – glavna pločica
 - I – skapularna pločica
 - II – prva uparena pločica
 - III – druga uparena pločica
 - III bis – pseudosegmentalna pločica*
 - IV – terminalna pločica
 - 1 – prva medijana pločica
 - 2 – druga medijana pločica
 - 3 – treća medijana pločica
- *Razlika od roda *Echiniscus* koji ju nema.

Slika 3. Raspored kutikularnih pločica (I-IV, 1-3) kod roda *Pseudechiniscus*

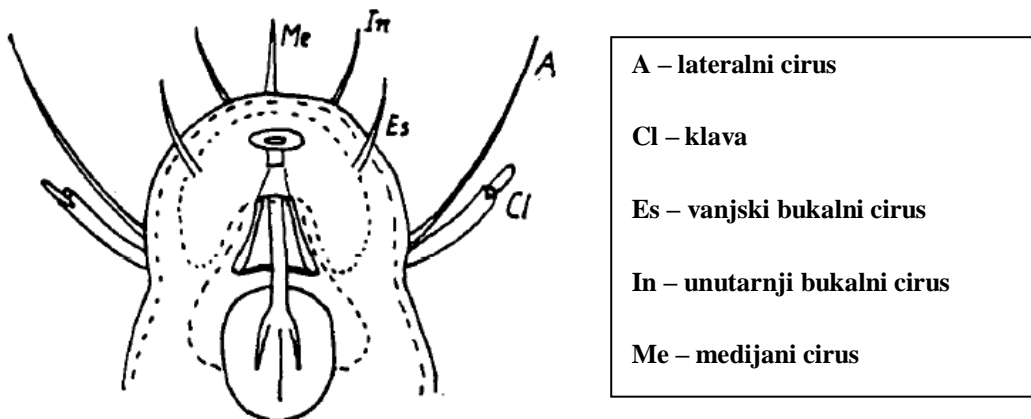
(prilagođeno prema Rammazotti & Maucci, 1983).

Neoklopljene vrste imaju glatku ili skulpturiranu kutikulu koja može nositi pore, granule, papile, mrežasta ojačanja ili grbe kao na primjer kod roda *Isohypsibius*. Istraživanja ultrastrukturnih karakteristika kutikule otkrila su i postojanje stupića u epikutikuli kod svih Heterotardigrada i nekih Eutardigrada (Guidetti *et al.* 2000) o značajkama i sistematskom položaju kojih će biti govora kasnije.

2.1.3. Kutikularni nastavci

Osim struktura na samoj kutikuli, kod mnogih dugoživaca mogu se uočiti i različiti nastavci: glaveni, lateralni, dorzalni, dorzolateralni i kaudalni. Ovi posljednji prisutni su tek kod nekolicine morskih vrsta, npr. kod *Batillipes sp.*

Glaveni nastavci uključuju medijani ili rostralni cirus (prisutan samo kod nekih morskih i jedne kopnene vrste), dva bukalna; vanjski i unutarnji, cirusa sa svake strane usnog otvora, dva lateralna cirusa između frontalne i skapularne pločice pri bazi kojih je malena papila nazvana klava (Slika 4.).



Slika 4. Raspored glavenih nastavaka kod vrste *Styraconix sargassi* (prilagođeno prema Rammazotti & Maucci, 1983).

Lateralni nastavci vidljivi su na Slici 3. i označeni slovima A, B, C, D i E. Na istoj slici dorzalni nastavci nose oznake B^d, C^d i D^d. Na pozicijama pod B', C' i D' ponekad su prisutni dorzolateralni nastavci nalik na zubiće.

Morfometrijske odlike kutikularnih nastavaka također su važno determinacijsko svojstvo. Ipak, oni ponekad kod iste vrste mogu biti prisutni i odsutni ili se mogu razviti tek u adultnom stadiju. Stoga je potreban oprez pri radu, a pogotovo kod utvrđivanja i opisivanja novih vrsta gdje je neophodno pregledati što više primjeraka, a ne samo jedan.

2.1.4. Obojenost

Između ostalih determinacijskih svojstava, obojenost je često u inferiornom položaju. Naime, ukoliko se ne načini fotografija živog primjerka, vrlo je vjerojatno da će u trajnom preparatu svi pigmenti biti razgrađeni, a uzorak postati proziran. Neovisno o tome, tijela dugoživaca mogu biti različito obojena i to iz tri razloga. Prvi je posljedica sadržaja probavila i načina prehrane te se obično uočava smeđa, crna ili zelena boja istog. Drugi razlog su pigmenti (vjerojatno karotenoidi) u granulama unutar stanica tjelesne šupljine. Takvi dugoživci su obojeni žućkasto do narančasto. Konačno, obojenosti može pridonositi boja same epiderme i kutikule koja se može razlučiti od prva dva slučaja ako se životinja tretira sa malo razrijeđene kalijeve lužine i promatra pod mikroskopom – uočava se otapanje pigmenta i promjena nijanse boje. Slika 5. prikazuje sva tri navedena slučaja.



Slika 5. Obojenost dugoživaca. A – zbog sadržaja probavila, B – zbog prisutnosti pigmentnih granula i C – zbog obojenosti kutikule (izvor: <http://tegrity.fresnocitycollege.edu>, www.nrm.se, www.baertierchen.de).

Obojenost dugoživaca zbog sadržaja u probavilu obično se smatra pseudokoloracijom ali može biti korisna za upoznavanje prehrane dugoživaca i staništa s kojeg potječu. Karotenoidi su, kako je već rečeno, smješteni u granulama koje su, točnije, lipidna tjelešca promjera ne većeg od 5 μm (Massonneau & May, 1950). Njihovo je podrijetlo najvjerojatnije alimentarno što potvrđuje činjenica da je dugoživac roda *Echiniscus* položen na lišaj bogat karotonom, (npr. *Xanthoria parietina*, *X. elegans* i sl.) nakon nekog vremena poprimio intenzivniju boju. Već citirani Massonneau i May drže da je uloga karotena zaštitna jer

apsorbira za stanice štetno ultraljubičasto zračenje. Ostali autori nadopunjavaju tu ulogu u smislu njihovog značaja kao rezervnih tvari (Mihelčič, 1950).

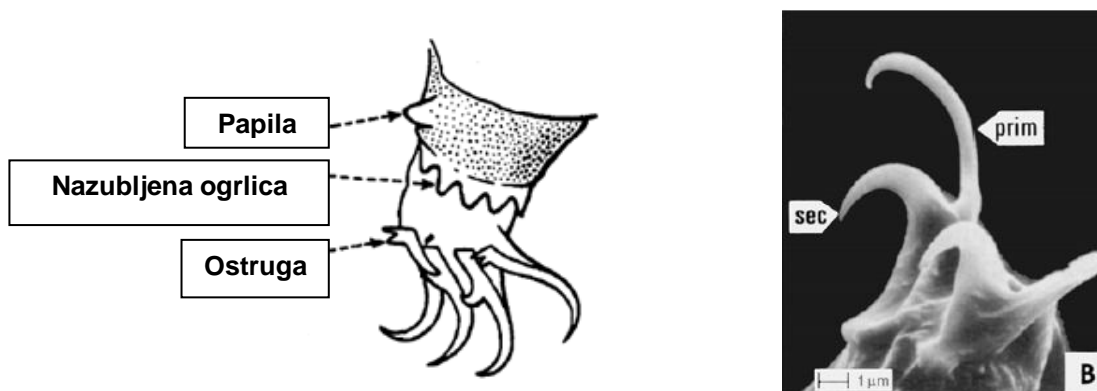
2.1.5. Lokomotorni nastavci

U odjeljku 2.1.1. definirano je da dugoživci imaju četiri, a u iznimnim slučajevima i tri para, lobopodnih nožica smještenih lateroventralno. Prva tri para najviše doprinose kretanju dok četvrti ima pomoćnu ulogu. Njihov oblik je više ili manje cilindričan. Zglobovi ili artikularne membrane nisu prisutne. Nožice završavaju kandžicama ili, iznimno kod nekih morskih vrsta, adhezivnim jastučićima (Slika 6.).



Slika 6. Kandžice kod roda *Echiniscus* i adhezivni jastučići (označen strelicom) kod roda *Batillipes* (izvor: www.baertierchen.de).

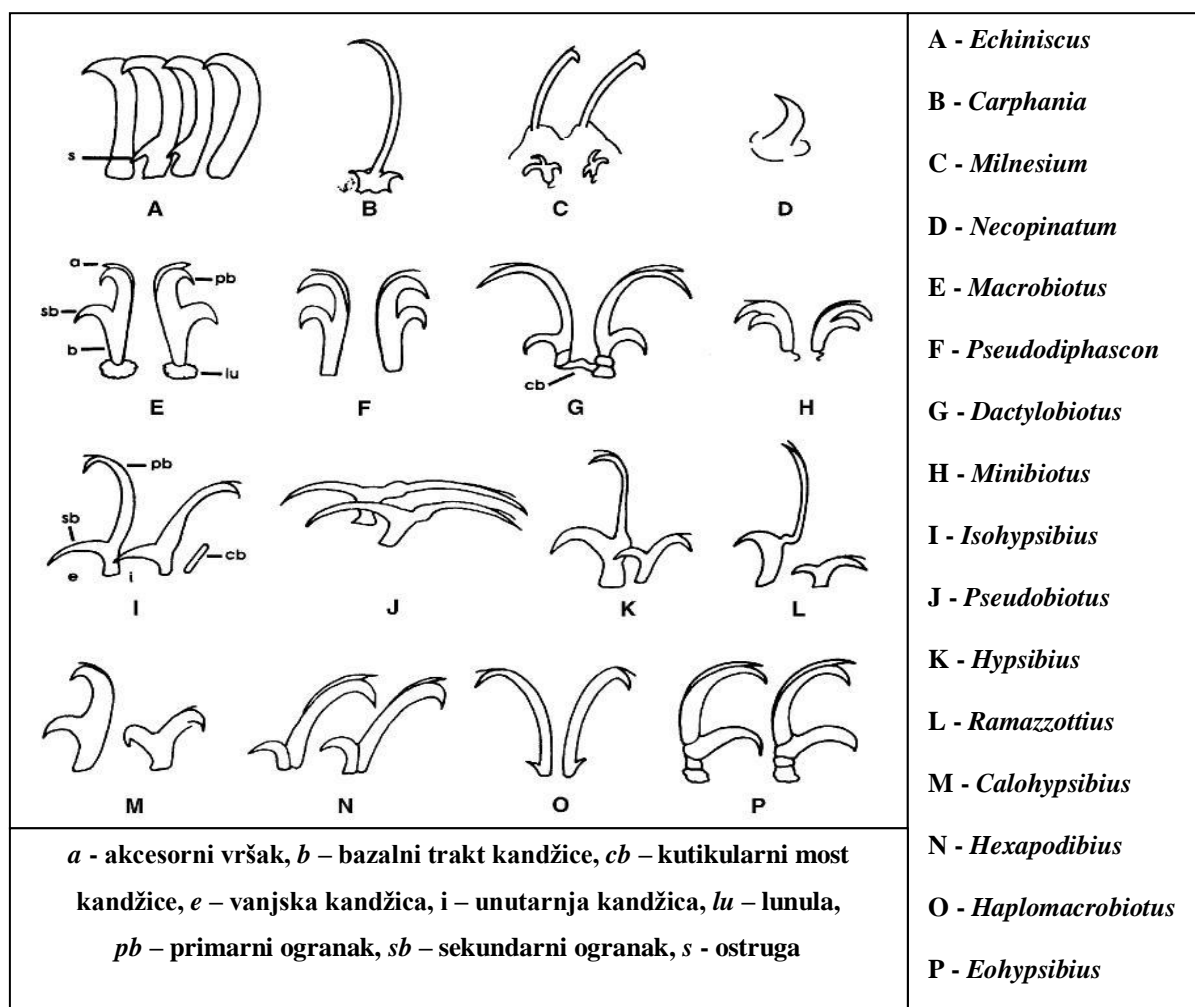
Opća građa nožice i kandžica na primjeru nožica jednog pripadnika roda *Echiniscus* i *Hypsibius* ilustrirana je na Slici 7. Lijevo su vidljivi papila, nazubljena ogrlica nožice te ostruge (engl. spurs) unutarnje i vanjske kandžice. Desno je na elektronsko-mikroskopskoj snimci prikazano grananje kandžice na primarni i sekundarni ogranak.



Slika 7. Građa nožice (lijevo) i prikaz grananja kandžica (desno) dugoživaca

(prilagođeno prema Rammazotti i Maucci, 1983; Nelson, 2001).

Oblik, veličina i razgranjenost kandžica još je jedno determinacijsko svojstvo, i to ne samo za pojedine vrste već i za rodove. Vezano uz to, razlikuje se nekoliko tipova kandžica koji su imena dobili prema rodovima koji ih posjeduju. To su: *i)* *Dactylobiotus* – tip, *ii)* *Macrobiotus* – tip, *iii)* *Calohypsibius* – tip, *iv)* *Hypsibius* – tip i *v)* *Isohypsibius* – tip. Unutar tipa *Macrobiotus* neki autori preferiraju dodatnu podjelu na: *iiia)* *Hufelandi* – tip te *iiib)* *Echinogenitus* – tip (Rammazotti & Maucci, 1983). Detaljno opisivanje svakog tipa prelazilo bi okvire ovog rada, pa je svrsishodnije prikazati izgled samo nekih od stotina različitih kandžica (Slika 8.).

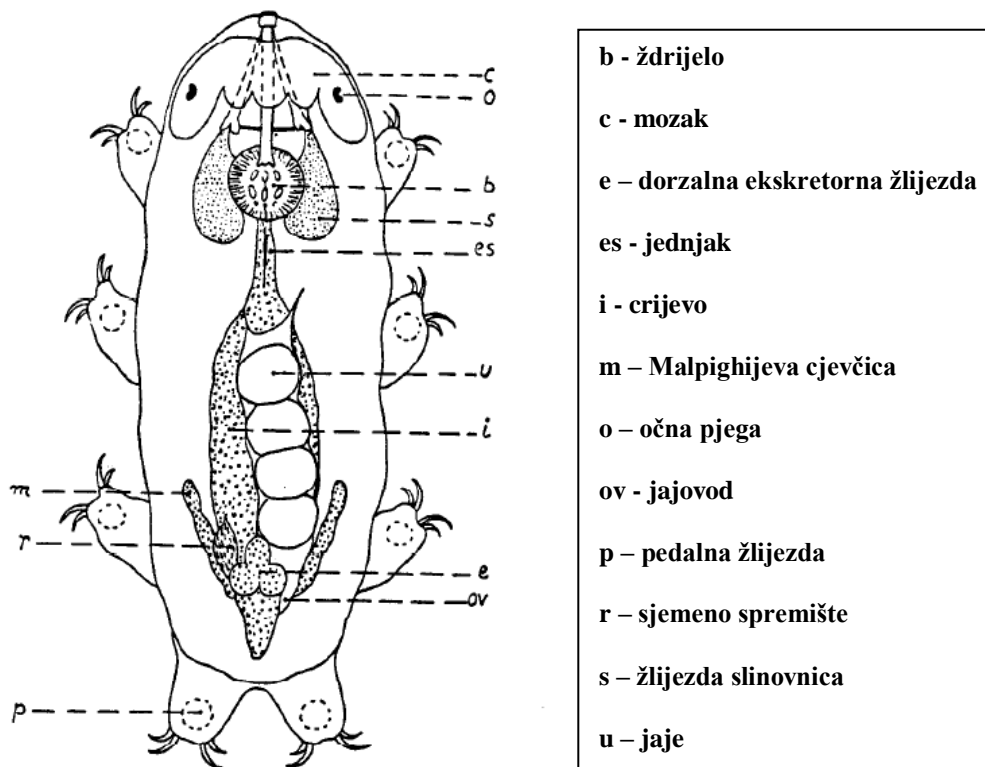


Slika 8. Pregled raznolikosti tipova kandžica kod dugoživaca (prilagođeno prema Nelson, 2001).

2.2. Anatomija i fiziologija dugoživaca

2.2.1. Generalni plan unutrašnje građe dugoživaca

Pripadajući kladusu Protostomia, dugoživci imaju shizocoelni postanak coeloma. Iz coeloma se kod dugoživaca izvode gonade, a glavninu tjelesne šupljine okružene vezivnim tkivom čini hemocoel ispunjen bezbojnom hemolimfom u kojoj pluta veliki broj fagocita. Kako srca nema, kretanje hemolimfe potaknuto je kretanjem cijelog organizma po podlozi. Raspored unutarnjih organa gledan odozgo shematski prikazuje Slika 9.



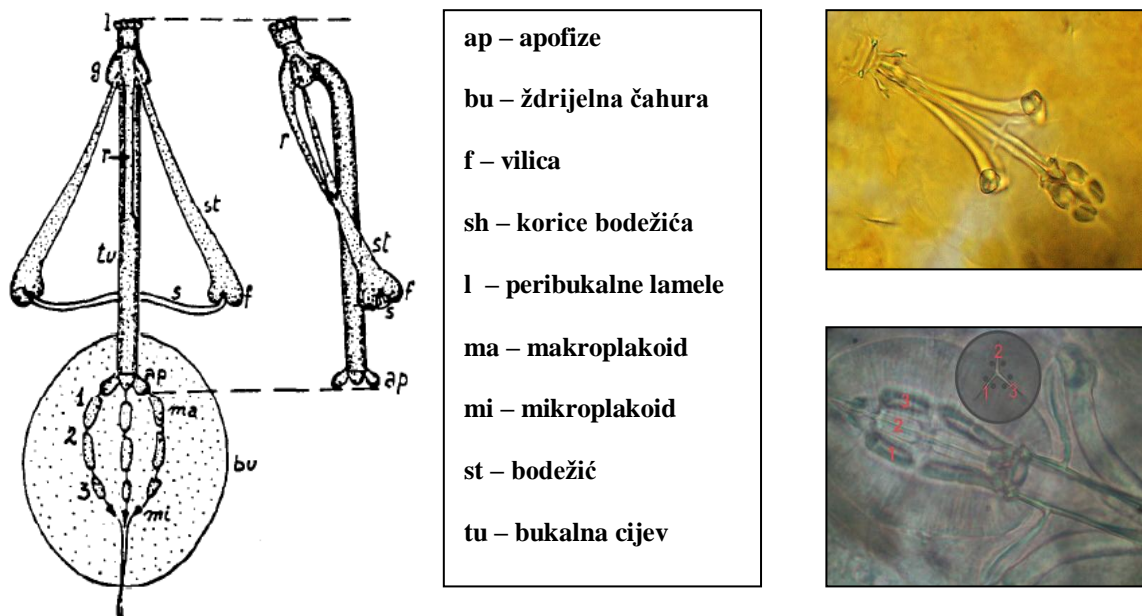
Slika 9. Shematski prikaz rasporeda unutarnjih organa u tipičnog dugoživca

(prilagođeno prema Ramazzotti i Maucci, 1983).

Kod većine dugoživaca od anatomskih struktura je svjetlosnim mikroskopom uz normalno osvjetljenje moguće studirati samo usni aparat. Za detaljnija promatranja ostalih potrebno je imati mikroskop opremljen kondenzorom za tamno vidno polje, fazni ili interferencijski kontrast.

2.2.2. Usni aparat, probavni sustav i prehrana

Digestivni trakt dugoživaca podijeljen je na anteriorni (usni otvor, ždrijelo i jednjak), središnji, gdje se odvija razgradnja hrane, i posteriorni ili rektalni dio. Usta su smještena terminalno ili ponešto ventralno, a često su okružena peribukalnim strukturama (lamelle, papile i maleni režnjevi) ili samo jednostavnim kutikularnim prstenom. Lijevo i desno od usta nalaze se mišićima pokretani retraktilni bodežići izgrađeni od tvari od kojih je i kutikula, sa kalcificiranim središnjim dijelom (Marcus, 1927). Na usnu šupljinu nadovezuje se ravna ili savijena bukalna cijev koja se otvara u ždrijelo ili ždrijelnu čahuru jajolikog oblika (Slika 10.). Gledano u poprečnom presjeku, ždrijelo ima tri šupljine koje se mogu kontrahirati, a na njih su vezani nizovi ljuskica (plakoida) koje usitnjavaju hranu.



Slika 10. Građa usnog aparata kod dugoživaca: lijevo shematski prikaz odozgo i sa strane (prilagođeno prema Ramazzotti i Maucci, 1983), desno fotografije (izvor: www.baertierchen.de).

Prehrana dugoživaca je raznolika, a kako su njihova najčešća staništa mahovine, lišajevi i algalne prevlake, pretežno su biljojedi – uz pomoć bodežića perforiraju biljne stanice i isisavaju hranjive tvari iz njih. Mali broj dugoživaca je karnivoran. Ovdje prednjači rod *Milnesium* čiji se neki pripadnici hrane manjim dugoživcima i bdeloidnim kolnjacima. U poglavlju o ekologiji, dodatno će biti spomenuti još neki aspekti njihove prehrane.

Ždrijelna čahura distalno je vezana na jednjak obložen kutikulom i stanicama koje izlučuju sluz. Najveći dio probavnog sustava je srednje crijevo endodermalnog postanka. Ono nije obloženo kutikulom i u njemu se odvija glavina probave hrane. Između Eutardigrada i Heterotardigrada postoje razlike u građi i funkciji istog. Prvi imaju ravno srednje crijevo sa tri ekskretorne žlijezde koje se otvaraju na mjestu prijelaza srednjeg u stražnje crijevo, dok ih drugi nemaju (Dewel *et al.*, 1993). Stražnje crijevo je specijalizirano za osmoregulaciju putem modificiranja sastava urina iz ekskretornih žlijezdi (Malpighijevih cjevčica). U posteriorni dio stražnjeg crijeva se kod Eutardigrada otvaraju izvodi spolnog sustava pa ga se može smatrati pravom nečisnicom. S druge pak strane, Heterotardigrada imaju gonopor i crijevni otvor odvojen (Nelson, 2001).

2.2.3. Sustav za izlučivanje i ekskrecija otpadnih produkata metabolizma

Općenito su moguća četiri načina ekskrecije kod dugoživaca. To su: *i*) putem žlijezda slinovnica prilikom presvlačenja jedinke, *ii*) putem odbacivanja kutikule sa akumuliranim otpadnim tvarima, *iii*) kroz stijenku srednjeg crijeva te *iv*) putem ekskretornih žlijezda (Ramazzotti & Maucci, 1983). Kod morskih pripadnika Eutardigrada ekskretorne žlijezde su znatno povećane što je, očigledno, posljedica prilagodbe na vodu povišenog saliniteta.

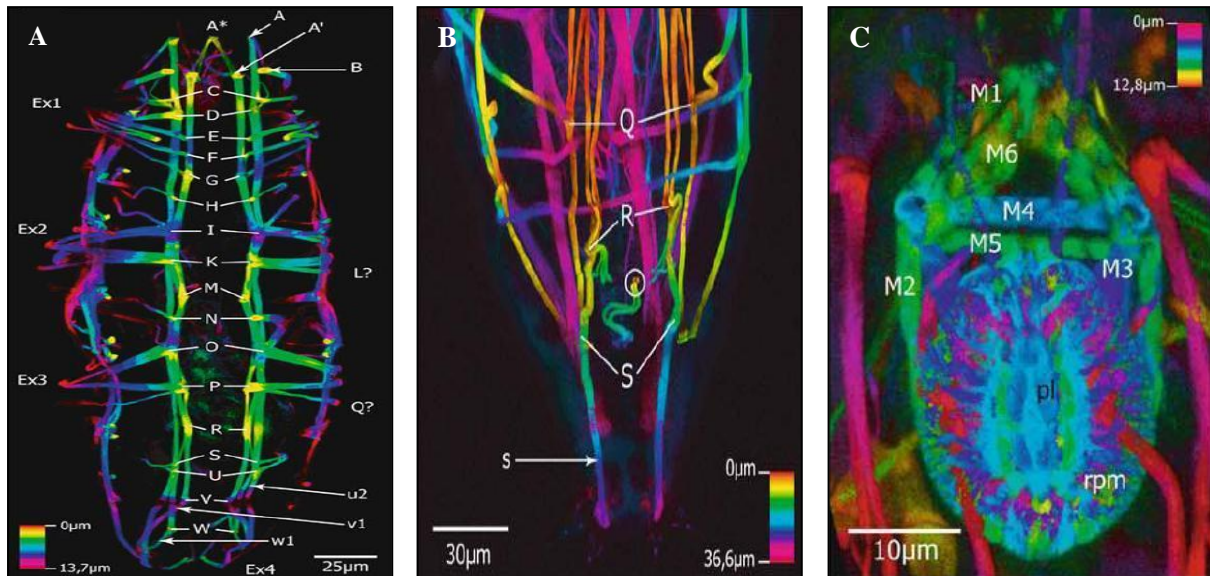
2.2.4. Sustav za izmjenu plinova, sustav za optjecanje; disanje i krvotok

Na početku ovog poglavlja o anatomiji i fiziologiji dugoživaca već je rečeno kako oni nemaju sustav za optjecanje. Također nemaju niti specijaliziranih struktura za izmjenu plinova već se ona odvija preko kutikule i epiderme posredstvom hemolimfe. Eksperimentalno je i određena potrošnja kisika kod vrste *Macrobotus hufelandi* od prosječno $1 \times 10^{-3} \mu\text{L h}^{-1}$ (Pigèon & Weglarska, 1953.).

Izostanak dišnog i optjecajnog sustava moguć je rezultat procesa minijaturizacije, tj. evolucije ekstremno malog tijela kod adultnih jedinki. Takav fenotip je kombinacija ancestralnih i izvedenih osobina, a uključuje istovremeno pojednostavljenje i pojavu multifunkcionalnosti stanovitih struktura. Sve to pridonosi diverzifikaciji koljena u kojima se odvija i, najzad, pojavi novih morfotipova unutar vrstâ i populacijâ (Hanken & Wake, 1993).

2.2.5. Mišićni sustav

Mišićni sustav je dobro razvijen i procjenjuje se da ga čini ukupno 40 do 140 samostalnih mišića usnog aparata, trupa i lokomotornih nastavaka. Mišići mogu biti građeni od jedne ili više mišićnih stanica, a tipično su brojniji i bolje razvijeni s ventralne strane. S dorzalne strane kod Heterotardigrada su samo dva longitudinalna mišića, dok Eutardigrada posjeduju četiri. To je ujedno i razlog bolje pokretljivosti i mogućnosti savijanja glave ovih potonjih. Mišiće je moguće vizualizirati metodom impregnacije srebrom i promatranjem pod svjetlosnim mikroskopom. Tehnikama bojanja faloidinom i upotrebom konfokalne mikroskopije dobiveni su izvrsni rezultati i trodimenzionalni prikaz muskulature dugoživaca (Schmidt-Rhaesa & Kulesa, 2007). Slika 10. A-C prikazuje fotografije dobivene jednim takvim istraživanjem.

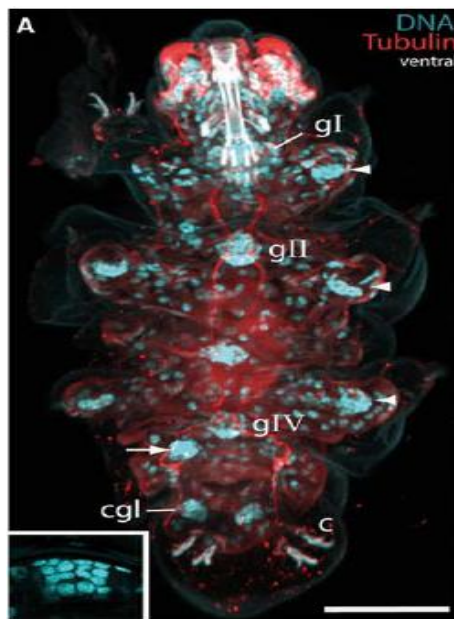


Slika 12. Dorzalna muskulatura trupa (A), nožice (B) i usnog aparata (C) prikazana tehnikom konfokalne mikroskopije (prilagođeno prema Schmidt-Rhaesa & Kulesa, 2007).

Učvršćenje mišića za kutikulu osigurano je putem kutikularnih protruzija koje ulaze u epidermu. Svi mišići su glatki i ravni. Prstenastih nema već njihovu antagonističku ulogu prema linearnima obavlja tlak tekućine unutar tjelesne šupljine. Same kandžice nisu pokretane mišićima; kontrakcije mišića nožice ju podižu, a vraćanje u prvobitni položaj je rezultat elastičnosti kutikule.

2.2.6. Živčani sustav i osjetila

Ljestvičasti živčani sustav kakav nalazimo kod Annelida, Arthropoda i Onychophora posjeduju i dugoživci. Glavni gangliji su cerebralni, podždrijelni i četiri ventralna ganglija. Uz to, postoji čitav niz manjih perifernih. Cerebralni i još nekoliko ganglija čine zajedno sa živčanim vrpčama prsten koji okružuje bukalnu cijev. On je parom konektiva spojen s ganglijima prvog para nožica. Mozak dugoživaca je homologan protocerebrumu člankonožaca, ili je, prema nekim tumačenjima, sincerebralnog tipa sa proto-, deuter- i tritocerebrumom. Trup inerviraju dvije dorzalne živčane vrpce sa četiri do pet parova segmentalnih ganglija međusobno povezanih transverzalnom komisurama. Tehnikom imunobojanja α -tubulina i upotrebom Hoechstovih boja¹ sa kombinacijom već spomenute konfokalne mikroskopije i ovdje je u recentnim istraživanjima načinjen veliki napredak u poznavanju građe živčanog sustava dugoživaca (Zantke *et al.*, 2008). Slika 13. prikazuje raspored ganglija u tijelu vizualiziran upotrebom tih metoda.



gI- gIV – segmentalni gangliji

cgl – pedalna žlijezda

c – kandžica

Tubulin je obojan crveno.

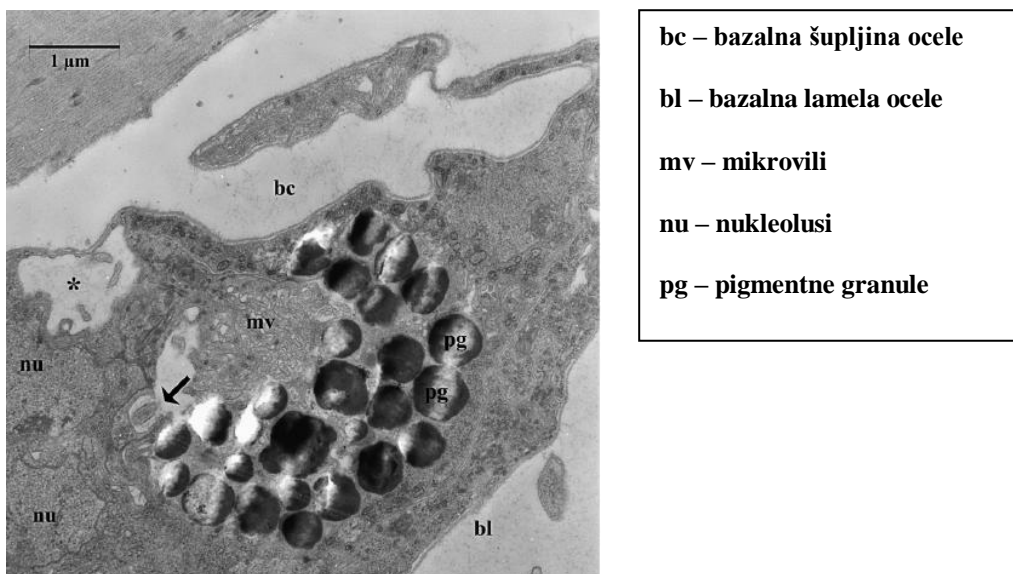
**Usni aparat nije obojan već
pokazuje autofluorescenciju.**

Slika 13. Raspored ganglija (plavo) u tijelu dugoživca *M. hufelandi* nakon bojanja Hoechstovim bojama. Mjerilo: 50 μ m (prilagođeno prema Zantke *et al.*, 2006).

¹ Hoechstove boje su skupina spojeva Bis-benzimida koji se koriste za fluorescentno bojanje DNA.

Osjetni organi nisu osobito razvijeni. Nastavci na kutikuli i glavi, iako raznoliki, ne služe svi nužno kao osjetila. Dotične papile, klave i ciri su uglavnom mehano- i kemoreceptori.

Najznačajnija osjetila u dugoživaca su jednostavne ocele na glavi s po jednom čaškastom pigmentnom i prozirnom fotosenzitivnom stanicom. Transmisijskom elektronskom mikroskopijom prereza kroz ocelu načinjenih ultramikrotomom, otkrivena je i njezina finija građa (Slika 14.). Od tih ultrastruktura najznačajnije je bilo otkriće mikrovila – rabdomeričnih protruzija koje sežu u čašku od pigmentnih granula, i cilija koji zajedno čine „prozirnu“ fotosenzitivnu stanicu (Greven, 2007).



Slika 14. Ultratanki prerez kroz ocelu dugoživca vrste *Milnesium tardigradum* (prilagođeno prema Greven, 2007).

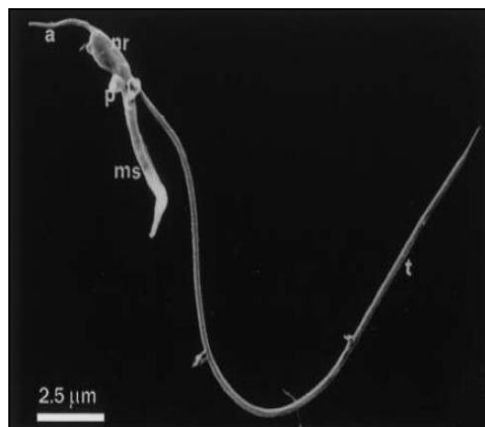
Opažanja o fototropizmu kod dugoživaca su jako kontradiktorna što je zacijelo posljedica različitim pristupima u planiranju eksperimenta, intenzitetu svjetlosti, starosti jedinki, supstratu na kojem se nalaze i slično (Baumann, 1961; Beasley, 2001). Primjerice, za vrstu *Hypsibius dujardini* zabilježen je pozitivan (von Erlanger, 1895), a za *Dactylobiotus dispar* negativan fototropizam (Marcus, 1928). Zanimljivo je da neke vrste nakon drugog presvlačenja izgube pozitivnu fototropnu reakciju (Baumann, 1961). Vrste intersticijskih staništa pokazuju tigmotropizam pri kontaktu sa česticama sedimenta kao i reotropizam pri intenzivnijem strujanju vode.

2.2.7. Spolni sustav i razmnožavanje; embrionalni razvoj

U dugoživaca su prisutne dvije temeljne reproduktivne strategije: spolno razmnožavanje i partenogeneza (Bertolani, 1982). Morske vrste su odvojena spola s jasnim spolnim dimorfizmom koji se očituje u građi gonopora. Partenogeneza nije zabilježena, kao ni hermafrodizam. Kopnene vrste, posebno pripadnici Eutardigrada, su odvojena spola ali vanjski spolni dimorfizam nije uočljiv. Jedina razlika je u veličini muških i ženskih jedinki, no to ne mora biti pravilo. Obzirom na raspodjelu brojnosti pripadnika oba spola, zabilježene su i uniseksualne i kombinirane populacije dugoživaca. Također je zanimljivo da su ženske jedinke određenih vrsta uvijek iteroparne, dok muške kombiniraju iteroparni i semelparni način produkcije potomstva (Bertolani, 1994).

2.2.7.1. Spolni sustav i spolno razmnožavanje

Jedinstvena (neparna) gonada, prisutna kod dugoživaca muškog i ženskog spola, smještena je dorzalno od probavila te je učvršćena sa dva (kod Eutardigrada) ili samo jednim (kod Heterotardigrada) ligamentom (Kristensen, 1978). Morfologija gonade ovisi o spolu, starosti, vrsti i reproduktivnoj aktivnosti. Kod muškog spola prisutna su dva sjemenovoda (vasa deferentia) koji se otvaraju u nečisnicu, a čitav spolni sustav je odvojen od probavnog. Ženski spol ima samo jedan jajovod koji se također otvara u nečisnicu. Na nizu presjeka elektronskom je mikroskopijom otkriveno da je građen od višejezgrenih stanica povezanih citoplazmatskim mostićima s vrlo velikim organelom nalik na endoplazmatski retikulum (Suzuki, 2006). Uz jajovod kod nekih je vrsta prisutno i sjemeno spremište (receptaculum seminis) sa pripadajućim otvorom u nečisnicu. Spermatozoidi (Slika 15.) su kod dugoživaca otkriveni vrlo rano (Henneke, 1911) te su opisani različiti tipovi čija je morfologija u korelaciji sa načinom prijenosa (Wolburg-Buchholz & Greven, 1979).



- a – akrosom
- ms – mitohondrijska vrećica
- nr – regija nukleusa
- p – izdanak
- t – repni dio

Slika 15. Spermatozoid vrste *Pseudechiniscus juanitae* (prilagođeno prema Rebecchi *et al.*, 2003).

Ultrastrukturalne značajke spermatozoida ukazuju na činjenicu da su isti kod Eutardigrada više specijalizirani od onih kod Heterotardigrada. Prvi su duljine 25-100 μm sa izduženom glavom i jasno razlučenim središnjim dijelom. Drugi su manji; 14-20 μm , bez jasno vidljivog središnjeg dijela (Rebecchi *et al.*, 1999).

Parenje dugoživaca opisano je kod vrlo malo vrsta (Bertolani, 1992). Češći je slučaj da mužjaci odlože spermu na otvor nečisnice kutikule ženke neposredno prije ili tijekom presvlačenja. Time se postiže vanjska oplodnja, nakon čega ženka obično polaže jaja u staru kutikulu (egzuvij) zaostalu prilikom presvlačenja (Slika 16.). Presvlačenje ženskih jedinki (ecdysis) vremenski je sinkronizirano s reproduktivnim ciklusom.



Slika 16. Izlazak dugoživca (D) iz egzuvija s jajima (E) (izvor: www.algumacoisa.net).

Ovisno o vrsti, dugoživci odjednom polažu oko 30 jaja smještenih u već spomenutom egzuviju ili pričvršćene na supstrat (alge, čestice sedimenta i sl.), bilo samostalno ili grupirano. Jaja mogu biti ornamentirana porama, zadebljanjima i različitim nastavcima, ili glatka što je uz njihovu veličinu još jedno determinacijsko svojstvo bez kojega je mnoge vrste gotovo nemoguće odrediti (Slika 17.).



Slika 17. Izgled tipičnih jaja dugoživaca (izvor: www.baertierchen.de).

2.2.7.2. Partenogeneza

U populacijama dugoživaca često se nalaze partenogenetske jedinke koje jednako dobro egzistiraju kao i one sa spolnim načinom razmnožavanja. To je potvrđeno i eksperimentalno, uzgojem vrste *Hypsibius dujaridini* u laboratoriju na hranjivoj podlozi obogaćenoj sesilnim algama, jedinke koje su pokazale obligatnu partenogenezu (Ammermann, 1962). Za mužjake kod poznatog roda *Echiniscus* dugo se smatralo da ne postoje, ali su ipak pronađeni (Dastych, 1987) i prema nekim istraživanjima u populacijama mogu egzistirati u znatnom broju (Claxton, 1996). Svojstvo prema kojem su mužjaci uspješno razlikovani od ženki je različit oblik gonopora otkriven skenirajućom elektronskom mikroskopijom (Grigarick *et al.*, 1975).

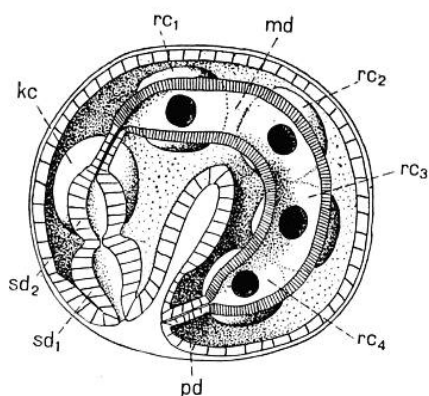
Uz partenogenezu je vezana i pojava poliploidije istraživana kod pripadnika različitih rodova Eutardigrada. Otkriveno je da se mejotička partenogeneza javlja u diploidnih biotipova slatkovodnih dugoživaca, dok se nemejotička javlja u triploidnih i tetraploidnih biotipova i slatkovodnih i kopnenih vrsta (Nelson, 1982). Različiti seksualni biotipovi često egzistiraju zajedno na istom mikrostaništu, a prema nekim pretpostavkama mogli bi predstavljati sestrinske vrste razlučive samo prema načinu razmnožavanja i osobinama kromosoma (Bertolani, 1972; Ramazzotti & Maucci, 1983). U Tablici 1. sistematizirane su neke značajke partenogeneze odabranih dugoživaca.

Tablica 1. Značajke partenogeneze odabranih dugoživaca (prilagođeno prema Bell, 1982).

Takson	Stupanj ploidiije	Način reprodukcije
<i>Echiniscus sp.</i>	2n (?)	Apomiksija (?)
<i>Hypsibius dujardini</i>	2n	Automiksija
<i>H. oberhauseri</i>	2n, 3n, 4n	Automiksija, apomiksija i amfimiksija
<i>Isohypsibius granulifer</i>	2n, 4n	Amfimiksija, autogamija (?)
<i>Macrobotus coronifer</i>	2n	nema podataka, ♂ rijetki
<i>M. hufelandi</i>	2n, 3n, 4n	Automiksija, apomiksija, amfimiksija
<i>M. pseudohufelandi</i>	3n (?)	nema podataka, ♂ rijetki
<i>M. richtersi</i>	2n, 3n	Apomiksija, amfimiksija
<i>Milnesium tardigradum</i>	2n	Automiksija
<i>Oreella sp.</i>	nema podataka	♂ nepoznati
<i>Parechiniscus sp.</i>	nema podataka	♂ nepoznati

2.2.7.3. Embrionalni razvoj

Brazdanje jajeta dugoživaca je totalno i ekvalno, čime nastaje blastula s vrlo malim blastocoelom. Ispunjavanjem blastocoela stanicama endoderma formira se središnja šupljina – preteča epitela i granica budućeg probavila. Savijanjem embrija (Slika 18.), ventralno formirana šupljina proktodeuma spaja se sa archaenteronom. U daljnim stadijima nastaju privremene coelomske vrećice iz kojih se izvode mišići i dorzalno smještena gonada. Posljedično, pripadajući jajovod ili sjemenovodi razvit će se ventralno. Ektodermalnog su podrijetla mozak, segmentalni gangliji i Malpighijeve cjevčice (Ramazzotti & Maucci, 1983).



kc – glaveni dio coeloma

md – srednji dio probavila

pd – proktodeum

rc₁₋₄ – coelomske vrećice

sd₁ – začetak žlijezde slinovnice

sd₂ – začetak usnog aparata

Slika 18. Presjek kroz embrio dugoživca (prema Marcus, 1929).

Trajanje razvoja mladih u jajetu znatno varira i zasigurno ovisi o tipu staništa i abiotičkim faktorima na njemu. Tako je primjerice za vrstu *Hypsibius convergens* zabilježeno vrijeme od samo 5 dana potrebnih za izlazak iz oplođenih jaja pri temperaturi od 18°C, dok je za vrstu *Hypsibius oberhauseri* za potpun razvoj potrebno 30-40 dana (Marcus, 1929). Mlade jedinke (Slika 19.) iz jajeta izlaze probijajući opnu bodežićima usnog aparata ili uz pomoć kandžica stražnjeg para nožica. O odnosima roditelja i potomstva te brizi za mlade ne zna se gotovo ništa, što otvara mogućnosti za nova istraživanja na polju ponašanja dugoživaca.



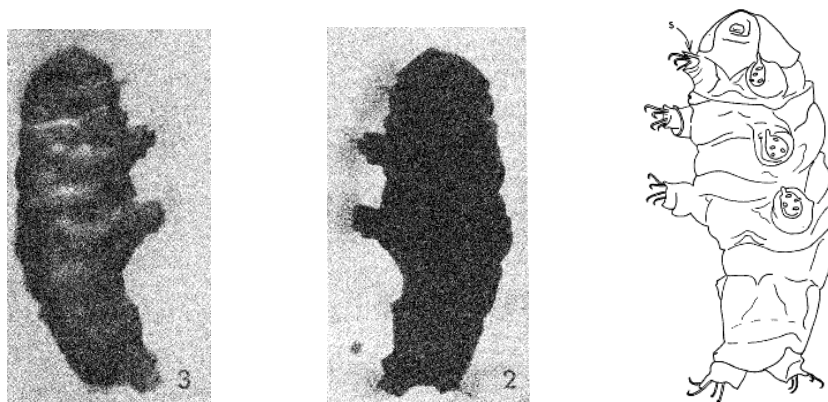
Slika 19. Odrasla i mlada jedinka dugoživca (lijevo) i mlada jedinka roda *Echiniscus* sa razvijene tek dvije od uobičajene četiri kandžice (desno) (izvor: www.baertierchen.de).

3. Evolucija i filogenetski položaj dugoživaca

U uvodnom dijelu ovog rada već je napomenut nesiguran položaj Arthropoda, kao i mogućnosti koje genom dugoživaca pruža za rasvjetljavanje srodstvenih odnosa unutar tog koljena. Budući da filogenija dugoživaca, zasada, bez obzira na veliki napredak u razvoju molekularnih metoda, nije potpuno jasna ni istražena, nema jedinstvenog konsenzusa i dovoljno jednoznačnih dokaza o njoj pa će ovdje biti prikazan samo sažet pregled novijih spoznaja, ideja, predloženih hipoteza i praktičnih metoda iz relevantnih radova.

3.1. Paleontološki dokazi evolucije dugoživaca

Za uspješnu fosilizaciju ostatka nekada živog organizma nužno je da on posjeduje strukture određenog kemijskog sastava koje će se oduprijeti djelovanju najprije tafonomskih procesa, zatim fosilizaciji i najzad dijagenezi koja će na nastale fosile djelovati. To su obično endoskeleti, egzoskeleti i njihovi dijelovi i fragmenti izgrađeni od kalcita, aragonita, apatita, stroncijevog sulfata i drugih minerala. Dugoživci, osim delikatnog kalcificiranog usnog aparata, ne posjeduju takve strukture. Jedini otporniji dio njihova tijela je kutikula pa je očito da je njihova fosilizacija u klasičnom smislu nemoguća. Tome dodatno pridonosi i njihova mala veličina tijela. Ipak, vrlo rijetki fosili dugoživaca nađeni su u jantaru gdje su ostali zarobljeni i time konzervirani. Najpoznatiji nalazi potječu iz jantara kambrijske (Walossek & Müller, 1998) i kredne (Legg, 1942;) starosti. Na Slici 20. prikazan je dugoživac vrste *Beorn leggi*, iz jantara sakupljenog na ušću rijeke Saskatchewan u jezero Cedar u kanadskoj pokrajini Manitoba. Anatomske značajke tog primjerka dokazuju da se radi o skupini koja se do danas gotovo i nije promijenila.



Slika 20. Fotografije i crtež vrste *B. leggi* iz jantara kredne starosti. Veličina oko 250 µm.

(prema Cooper, 1964)

3.2. Molekularno–biološki dokazi evolucije dugoživaca i mogući filogenetski položaj

3.2.1. Takson Panarthropoda

Zajedničke osobine Tardigrada, Onychophora i Arthropoda – udovi s kandžicama, ventralni položaj živčanog sustava i segmentirano tijelo navele su znanstvenike na ideju da ih svrstaju u jedan zajednički takson nazvan Panarthropoda (Telford *et al.*, 2008). Osim njega, člankonošci su svrstavani i u skupinu Articulata zajedno sa Annelida. Za Onychophora i Tardigrada također je ponekad u upotrebi skupni termin „Lobopoda“ (Cavalier-Smith, 1998).

3.2.2. Nadkoljeno Ecdysozoa

Ecdysozoa su skupina protostomičnih životinja u koju, osim Arthropoda i Nematoda, spadaju i neka manja, tzv. opskurna koljena: Tardigrada, Onychophora, Kinorhyncha, Loricifera, Priapulida i Nematomorpha. Svi oni dijele zajedničku osobinu a to je mogućnost presvlačenja (ecdysis). Teorija o Ecdysozoa razvila se temeljem analize gena 18S rRNA. (Aguinaldo *et al.*, 1997).

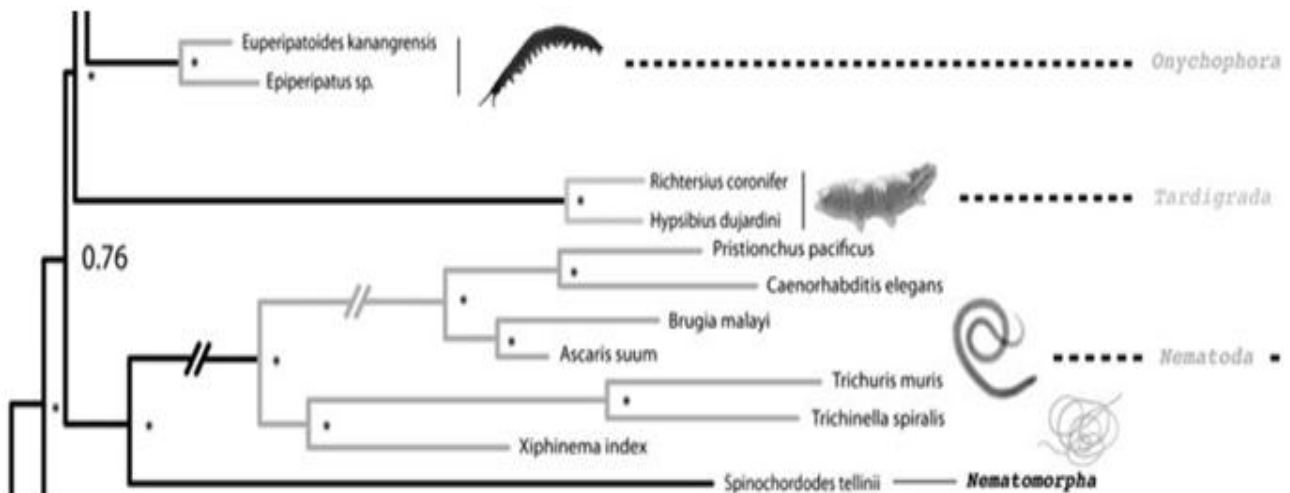
Rezultati istraživanja objavljeni u vrlo uglednom časopisu Nature, donose mogućnost grupiranja Tardigrada zajedno s Nematoda (Slika 21.), ostavljajući Onychophora kao njihovu sestrinsku grupu (Dunn *et al.*, 2008). Druga mogućnost predlaže da se zajedno svrstaju Tardigrada i Onychophora.



Slika 21. Filogenetski odnosi prema ideji o zajedničkoj skupini Nematoda i Tardigrada, te Tardigrada i Onychophora (izvor: <http://bioinf.nuim.ie>).

Tu hipotezu nisu potvrdila istraživanja microRNA² (Campbell *et al.*, 2011) jer su dokazala da Tardigrada i Nematoda ne dijele istu miRNA. S druge strane, u dotičnom radu je potvrđena i starija ideja o monofiliji Ecdysozoa. Istraživanje je provedeno na eksprimiranim biljezima sekvence (expressed sequence tags, EST) za čak 255 različitih proteina. Razlog što je grupa Tardigrada + Nematoda dugo vremena imala podršku, jest fenomen koji se javlja u filogenetskim računalnim analizama, a naziva se Long branch attraction (LBA). Algoritmi za klasteriranje napisani su obično tako da čvorove velikog disimilariteta, tj. one sa dugačkim ograncima, grupiraju zajedno što najčešće ne odgovara realitetu. Izradom algoritama za korekciju, pretvorbom dugačkih ogranaka u kraće i dodavanjem taksona srodstveno povezanih sa onima na tim ograncima, problem LBA se može riješiti čime se dobivaju pravi srodstveni odnosi na filogenetskom stablu (Bergsten, 2005).

Slika 22. prikazuje isječak filogenetskog stabla na kojem su vidljivi u gornjem tekstu diskutirani filogenetski odnosi Tardigrada, Nematoda i Onychophora, a prema rezultatima analize miRNA.



Slika 21. Dio filogenetskog stabla sa rezultatima srodstvenih odnosa dobivenih analizom miRNA (prema Campbell *et al.*, 2011).

² MicroRNA je vrlo kratka RNA u eukariotskim stanicama uključena u regulaciju ekspresije gena i modifikacije histona, a vrlo je pogodna za filogenetske analize jer izuzetno sporo evoluirala. Drži se da je pojava miRNA omogućila tzv. fino uglađivanje ekspresije gena i stvaranje kompleksnih organa i struktura u živom organizmu.

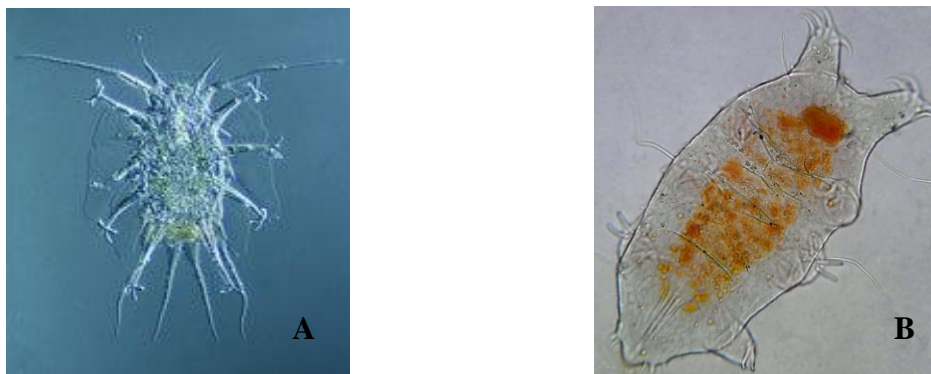
4. Klasifikacija dugoživaca

Koljeno Tardigrada 1983. godine je brojalo 531 vrstu (Ramazzotti & Maucci, 1983.), a prema posljednjoj reviziji iz 2012. godine ima preko tisuću vrsta (Degma *et al.*, 2012), što dokazuje da je raznolikost dugoživaca znatno veća no što se to dugo vremena smatralo. Otkriću novih vrsta znatno doprinose istraživanja u polarnim krajevima, tropskim krajevima i na ekstremnim staništima. Svi dugoživci se svrstavaju u tri razreda: Heterotardigrada, Mesotardigrada i Eutardigrada, te će tim redom ovdje ukratko biti prikazana obilježja svakog od njih uz fotografije i bilješke o najzanimljivijim predstavnicima. Prikazana klasifikacija kombinirana je iz starije (Ramazzotti & Maucci, 1983) i novije (Nelson, 2001) literature.

4.1. Razred: Heterotardigrada

U ovaj razred ubrajaju se red Arthrotardigrada sa porodicama Coronarctidae, Halechiniscidae, Batillipedidae, Stygarctidae i Archechiniscidae te red Echiniscoidea sa porodicama Echiniscoididae, Oreelidae, Carphanidae i Echiniscidae. Svi pripadnici Arthrotardigrada su morski osim jedne slatkovodne vrste; *Styraconyx hallasi*. Marinski dugoživci posebno se ističu specijaliziranim kandžicama koje često zamjenjuju adhezivni jastučići kao i proširenjima kutikule razapetima između udova poput krila. Njihova je najvjerojatnija uloga pomoć pri održavanju položaja u stupcu vode (Slika 23.A)

Drugi pripadnici ovog razreda koje valja istaknuti su oklopljeni dugoživci roda *Echiniscus* česti u mahovinama ali vrlo zahtjevni i izbirljivi po pitanju ekoloških uvjeta na staništu. Slika 23.B prikazuje dugoživca vrste *Echiniscus testudo* nađenog u mahovini *Leucodon* sp. na vrlo suhom staništu.



Slika 23. Marinski dugoživac roda *Florarctus* (A) i primjerak vrste *Echiniscus testudo* (B).

(izvor: <http://zoologi.snm.ku.dk> (A), vlastita fotografija (B))

4.2. Razred: Mesotardigrada

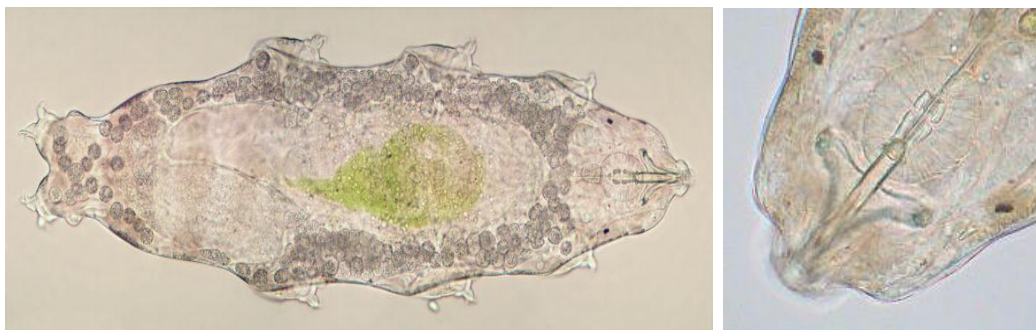
Razred Mesotardigrada broji samo jedan red: Thermozodia, sa jednom porodicom: Thermozodiidae i vrstom *Thermozodium esakii*. Radi se o dugoživcu pronađenom u jednom termalnom izvoru nedaleko Nagasakija u Japanu. Međutim, kako je *locus typicus* uništen u potresu, a holotip vrste izgubljen, status ovog razreda predmetom je diskusije.

4.3. Razred: Eutardigrada

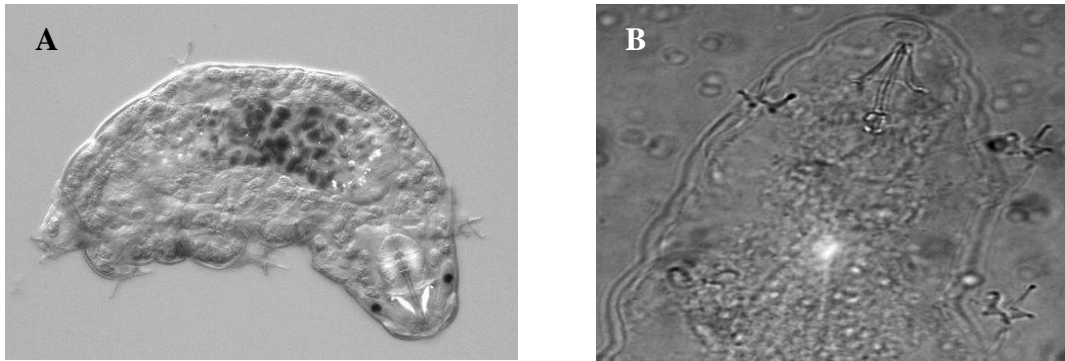
Treći i posljednji razred dugoživaca je i najbrojniji. Budući da se unutar njega nalaze najpoznatije vrste ovdje će mu biti posvećeno više pažnje. Čine ga dva velika reda: Parachela i APOCHela, a podjela na koje je izvršena prema morfološkim karakteristikama.

4.3.1. Red: Parachela

Pripadnici ovog reda nemaju papila na glavi, a primarni i sekundarni ogranak kandžice su spojeni i čine dvostruku kandžicu (Slika 8.E). Porodice unutar ovog reda su sljedeće: Macrobiotidae, Calohypsibiidae, Amphibolidae, Hypsibiidae i Necopinatidae. Unutar porodice Hypsibiidae je 1987. izdvojen važan red Ramazzottius kojeg u kapitalnom djelu o dugoživcima „Il Phylum Tardigrada“ iz 1983. još nije bilo. Najbrojnija je porodica Macrobiotidae koja je ujedno i najzahtjevnija za determinaciju, jer su presudne odrednice poput zareza na kandžicama ili ornamentacija kutikule dobro vidljive tek pod elektronskim mikroskopom. Najpoznatija vrsta je svakako *Macrobiotus hufelandi*, koji je gotovo ubikvitaran (Slika 24.). Osim njega, česti su još *Hypsibius dujardini* i *Ramazzottius oberhaeuseri* (Slika 25. A i B).



Slika 24. *Macrobiotus hufelandi*. Lijevo: *in toto*, desno: usni aparat. (izvor: www.baertierchen.de)

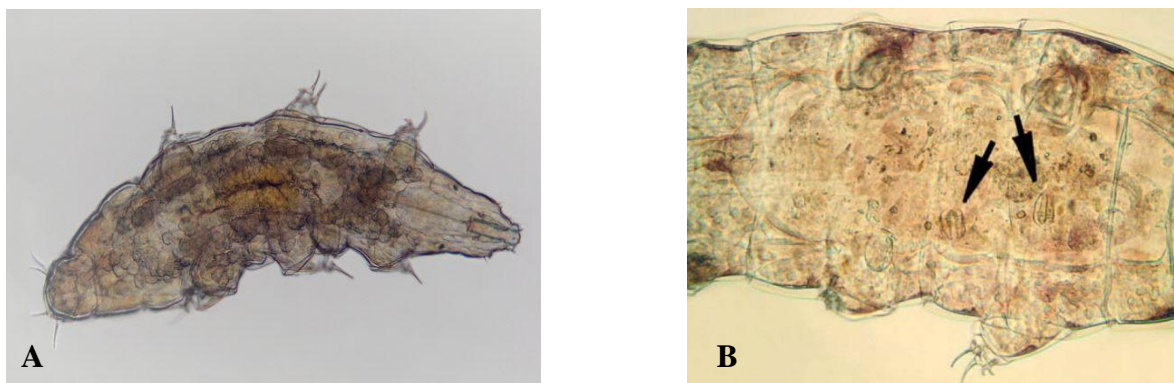


Slika 25. *Hypsibius dujardini* (A) i *Ramazzottius oberhaeuseri* (B).

(izvor: www.eol.org (A), vlastita fotografija (B)).

4.3.2. Red: Apochela

Za razliku od pripadnika Parachela, papile na glavi su prisutne, a primarni i sekundarni ogranak kandžice su posve odvojeni (Slika 8.C) U ždrijelu ne nalazimo nikakve plakoide. U ovom redu je jedna porodica, Milnesiidae, sa dva roda: *Milnesium* i *Limmenius*. Dosta česta vrsta koja se ovdje izdvaja i nalazimo ju na raznim staništima, je *Milnesium tardigradum* (Slika 26.A). Ovog dugoživca je vrlo lako prepoznati jer veličinom znatno nadilazi ostale prisutne u uzorcima, usni otvor mu je okružen sa šest papila, cijev usnog aparata je kratka i široka, a bodežići vrlo mali. Ova je vrsta također i karnivorna pa se hrani drugim manjim dugoživcima i kolnjacima te se u sadržaju probavila ponekad mogu uočiti neprobavljivi žvačnjaci (Slika 26.B).



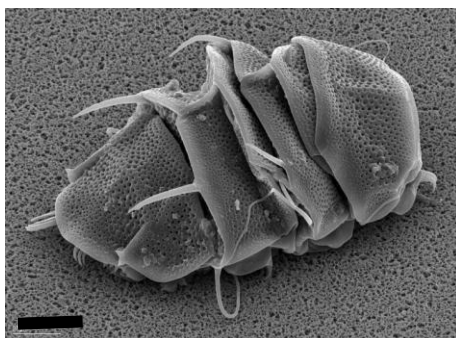
Slika 26. *Milnesium tardigradum*. A: *in toto*. B: neprobavljeni žvačnjaci konzumiranih kolnjaka (izvor: www.baertierchen.de).

5. Kriptobioza u dugoživaca

U raznim tekstovima često se nailazi na podatak da su dugoživci najdugovječniji i najotporniji organizmi na Zemlji što, dakako, nije točno. Iako su školski primjer za kriptobiozu (anabiozu), nisu jedini organizmi s tom sposobnosti. Mnogi bdeloidni kolnjaci, oblići, račići škrgonošci (npr. *Artemia salina*) pa i jedna vrsta trzalca; *Polypedilum vanderplanki* (Okuda *et al.*, 2006), posjeduju takvu sposobnost preživljavanja nepovoljnih uvjeta u okolišu. Općenito gledajući, kriptobioza je jedna forma dormancije dugoživaca dok je druga, rjeđa, začahurenje³ (Guidetti *et al.*, 2006). Dugoživci u stanju kriptobioze stvaraju posebnu strukturu nazvanu bačva³ (Slika 27.).

5.1. Anhidrobioza

Najčešći tip kriptobioze je anhidrobioza odnosno preživljavanje aridnih uvjeta na staništu. Dugoživci relativno lako ulaze u ovo stanje ako sušenje nije prebrzo (Hingley, 1993). Pritom se uvlačenjem udova, glave i stražnjeg dijela tijela formira spomenuta bačva. Ponovnim dodatkom vode dugoživci se za kratko vrijeme vraćaju u početno stanje. Dokazano je da prekomjerna i produljena hidratacija nakon perioda isušivanja može smanjiti brojnost pojedinih vrsta dugoživaca u zajednici (Jönsson, 2007). Ta su istraživanja potvrdila hipotezu da dugoživci favoriziraju staništa na kojima abiotički faktori, u ovom slučaju vlažnost, periodički osciliraju. Time se nudi veća varijabilnost uvjeta za razmnožavanje, a dugoživci mogu odabrati one najpogodnije. Nadalje, u stanju anhidrobioze olakšana je disperzija jedinki vjetrom iz osušenih supstrata i kolonizacija novih staništa.



Slika 27. Dugoživac roda *Echiniscus* u formi bačve nakon ulaska u stanje kriptobioze. SEM snimka. Mjerilo: 20 μm (izvor: www.theepochtimes.com).

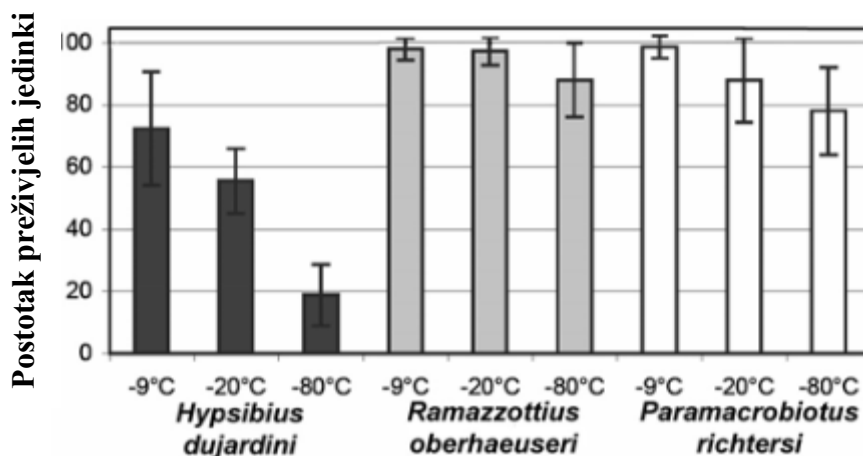
³ U angloameričkoj literaturi za začahurenje se navodi termin *encystment*, a za bačvu *tun* te su ovdje ponudeni prijevodi slobodan odabir autora budući da u domaćoj literaturi ne postoje adekvatni termini.

5.2. Kriobioza

Sa anhidrobiozom usko je povezan proces ulaska u stanje kriobioze i preživljavanje niskih temperatura u formi već poznate bačve. Neki dugoživci u kriobiozu mogu ući i hidratizirani, a da ne prođu desikaciju (Rahm, 1924) te preživjeti i hlađenje u tekućem dušiku. Ipak, pogrešno je mišljenje da to mogu sve vrste, a naročito važan faktor je brzina hlađenja. Pokazano je da direktno uranjanje živih jedinki u tekući dušik (-196°C), što odgovara brzini hlađenja od oko $1500^{\circ}\text{C min}^{-1}$, ne preživi niti jedna (Sømme, 1996). No ukoliko se dugoživci podvrgnu najprije polaganom hlađenju brzinom od približno $30^{\circ}\text{C min}^{-1}$ do temperatura u rasponu -10°C do -90°C i zatim ohlade tekućim dušikom, tada znatan postotak testiranih jedinki preživi (Ramløv & Westh, 1992).

Premda su ove sposobnosti dugoživaca kuriozitet i većina kriobioloških istraživanja je s njima obavljana na ekstremno niskim temperaturama kakvih nema na njihovim prirodnim staništima, manje pažnje se posvećuje njihovoj toleranciji na niske temperature. Dugoživci sa Grenlanda i Antarktike kao što su *Adorybiotus coronifer* i *Amphibolus nebulosus* pokazuju i sposobnost pothlađivanja bez ulaska u stanje kriobioze. To je također uočeno samo kod nekih jedinki i više je iznimka nego pravilo (Westh & Kristensen, 1992).

Za ilustraciju, na Slici 28. prikazani su rezultati dobiveni istraživanjem otpornosti na preživljavanje niskih temperatura u tri česte vrste koje obitavaju u mahovinama. Kod vrste *Hypsibius dujardini* je već na -9°C manje od 80% preživjelih jedinki (Bertolani *et al.*, 2004).



Slika 28. Grafički prikaz ovisnosti broja preživjelih jedinki tri vrste dugoživaca o temperaturi (prilagođeno prema Bertolani *et al.*, 2004).

5.3. Ostale forme kriptobioze

Budući da su u prethodna dva odjeljka opisani najvažniji vidovi preživljavanja nepovoljnih uvjeta, ovdje će samo sažeto biti prikazani ostali budući da za opstanak dugoživaca nisu presudni, a često ih se u prirodnom okruženju i ne može postići.

5.3.1. Anoksibioza (asfiksija)

Iako se ovo stanje ne smatra pravom kriptobiozom, valja ga spomenuti jer su dugoživci prilično osjetljivi na nedostatak kisika u vodenom mediju u kojem obitavaju (Lindahl & Balser, 1999). Promatranjem aktivne jedinke u kapljici vode nakon nekog vremena opaža se prestanak kretanja i napokon se tijelo dugoživa potpuno ispruži i ukoči. Nedostatak kisika remeti osmoregulacijske mehanizme pa voda nesmetano ulazi u tjelesne stanice povećavajući njihov volumen. Reoksigenacija polako uklanja stanje ukočenosti i dugoživac je ponovno aktivan.

5.3.2. Otpornost na ionizirajuće zračenje

Istraživanja *in vitro* na vrsti *M. tardigradum* potvrdila su otprije poznatu činjenicu da dugoživci mogu podnijeti enormne doze ionizirajućeg zračenja. Izlaganjem jedinki γ -zračenju određena je LD₅₀ od 5000 Gy, ali već pri dozi nešto višoj od 1000 Gy se izaziva sterilnost jedinki (Horikawa *et al.*, 2006). Za usporedbu, doza od 5-10 Gy je smrtonosna za čovjeka (Radiation exposure and Contamination, Merck Manuals, 2011).

U sklopu projekta „RoTaRad“ (Rotifers, Tardigrades and Radiation) vezanog uz misiju BIOPAN 6 koju financira Europska svemirska agencija, istraživan je utjecaj vakuuma, kozmičkog zračenja i mikrogravitacije na dugoživce izložene otvorenom svemiru u niskoj Zemljinoj orbiti. Rezultati su pokazali da neke vrste i njihovi embriji mogu preživjeti takve ekstremne uvjete, dok druge uopće ne mogu (Persson *et al.*, 2011). To je također podsjetnik da dugoživci nisu ultimativni organizmi kako se to često senzacionalistički ističe (Copley, 1999; Jönsson & Bertolani, 2000).

Biokemijski mehanizmi koji omogućuju kriptobiozu ovdje neće biti prikazivani. Korisno je samo spomenuti ugljikohidrat trehalozu koja vjerojatno djeluje kao krioprotektant i zamjenjuje vodu u stanicama te tako priječi stvaranje kristala leda koji uništavaju stanične membrane, odnosno štetnih slobodnih radikala iz vode pri ozračivanju (Sola-Penna & Meyer-Fernandes, 1998).

6. Ekologija dugoživaca

6.1. Staništa

Do sada je u ovom tekstu podjela dugoživaca prema staništu na kojem obitavaju vršena na morske i kopnene što, поближе gledano, ne zadovoljava ali se zbog jednostavnosti često u literaturi upotrebljava. Svi dugoživci su tijekom aktivnog stadija života vezani uz vodu ili tanak sloj vode (film) na nekom supstratu, pa bi ispravno bilo sve ih smatrati akvatičkim organizmima. Sva staništa dugoživaca mogu se otprilike grupirati ovako (Ramazzotti & Maucci, 1983):

- a) Morske i boćate vode
- b) Pijesak uronjen u vode pod a) tj. morske biocenoze psamona
- c) Slatke i termalne vode
- d) Pijesak uronjen u vode pod c) tj. slatkovodne biocenoze psamona
- e) Mahovine u užem smislu i lišajevi
- f) Listinac
- g) Tlo i ostala staništa

Kao najbolje istražena staništa izdvajaju se mahovine i lišajevi koji su obično epifitski ili epilitski. Dugoživci na njima su oni koji se najčešće nazivaju kopnenima. Da bi stanište bilo pogodno za život, trebalo bi zadovoljavati tri kriterija: *i*) dobra aeracija, *ii*) mogućnost izmjene sušnih i vlažnih perioda te *iii*) dovoljna količina prikladne hrane. Iz ovoga se lako zaključuje kako debele i guste mahovine nisu pogodna staništa ali isto tako niti one sa čvrstim filoidima (npr. *Polytrichum* sp.) koje bodežići dugoživaca ne mogu probiti. Suprotno tome, prozirne mahovine i one koje se sušenjem kontrahiraju, a vlaženjem ekspandiraju čine izvrsno mikrostanište. Primjer je rod *Leucodon*, čest na betonskim i kamenim površinama izloženima sunčevom svjetlu (Slika 29.). U uzorku te mahovine autor ovog rada pronašao je bogatu zajednicu dugoživaca s velikom brojnošću jedinki roda *Echiniscus* i vrste *E. testudo* (Slika 23.B) za koju je poznato da preferira upravo staništa izložena suncu i vjetru.

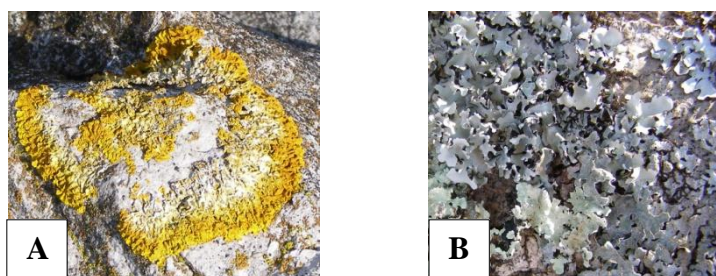


Slika 29. Mahovina roda *Leucodon* u stanju desikacije (izvor: vlastita fotografija).

Osim na suhim mahovinama, dugoživaca se u nešto manjem broju može naći i na onim submerznim (npr. *Fontinalis antipyretica*) koje im vjerojatno pružaju zaklon od strujanja vode (Suren, 1992), a takve vrste se mogu smatrati pravim akvatičkim (hidrofilnim) dugoživcima. U mahovinama vrlo specifičnih staništa kao što su cretovi navode se tek dvije do tri vrste (Hingley, 1993) jer se radi o supstratima koji su vrlo vlažni i niske pH vrijednosti.

Drugo važno stanište dugoživaca su lišajevi u koje jedinke vjerojatno dospiju disperzijom pomoću vjetra, a uspijevaju se održati povremenim vlaženjem lišaja kišom ili drugim oblicima atmosferske vlage. Fauna dugoživaca lišajeva istraživana je i u nas (Franić, 2010), a ti su rezultati u skladu s preliminarnim istraživanjima, ponovno, autora ovog seminara koji je determinirao kserofilnu vrstu *Ramazzottius oberhaeuseri* u nekoliko uzoraka lišaja roda *Xanthoria* i *Physcia* (Slika 30.A i B).

Treće stanište koje je nedovoljno istraženo, a svakako bi mu trebalo posvetiti više pažnje, jesu razni sedimenti iz kojih se dugoživci teže izdvajaju, a gdje obitavaju kao intersticijska fauna ili epibentos (Giere, 2009). Jednaki je problem i sa tlom gdje je vrlo teško odrediti metodologiju ispravnog uzorkovanja, a distribucija organizama je iznimno nepravilna.



Slika 30. Lišajevi roda *Xanthoria* (A) i *Physcia* i (B) (izvor: vlastite fotografije)

6.2. Prehrana dugoživaca i uloga u hranidbenim mrežama

Već su u poglavlju o morfologiji, anatomiji i fiziologiji dugoživaca pokazani neki aspekti prehrane dugoživaca pa će ovdje biti opisani samo dodatni detalji. Najčešća hrana su im detritus, hife gljiva, alge, bdeloidni kolnjaci, drugi dugoživci, bakterije, oblići, biljni dijelovi, a vjerojatno i Protozoa. Anatomske odlike pojedine vrste u direktnoj su vezi sa načinom prehrane. To je uočljivo kod dobro poznate vrste *M. tardigradum* čija široka cijev usnog aparata omogućuje usisavanje velikog plijena kao što su kolnjaci putem kontrakcija mišićnog ždrijela. Na sličan način se hrani i rod *Diphascon* samo zbog malog promjera usnog otvora konzumira alge. Oklopljeni dugoživci posjeduju vrlo dugačke bodežice pa mogu probiti i deblje celulozne stanične stijenke stanica mahovina (Morgan, 1977). Također, herbivorni dugoživci imaju i veći probavni sustav od ostalih (Węglarska, 1990). Osim što su sami predatori drugim organizmima i međusobno, dugoživce konzumiraju puževi kao što je *Bulimulus guadalupensis* u čijem su fecesu nađeni ostaci dugoživaca. I neke parazitske gljive poznate su po tome što inficiraju dugoživce.

U različitim hranidbenim mrežama uloga dugoživaca može se činiti beznačajna, no recentnija istraživanja pokazuju da to ne stoji. Na primjeru oblića *Meloidogyne incognita* koji parazitira u biljkama pokazano je da nestankom drugih oblića u tlu koji se njime hrane, njihovu ulogu kontrolnog mehanizma ubrzo vrlo uspješno preuzimaju dugoživci (Sánchez-Moreno *et al.*, 2008).

6.3. Geografska rasprostranjenost dugoživaca

Premda nezamjetni, dugoživci koloniziraju gotovo sva poznata staništa na Zemlji. Nađeni su u termalnim izvorima, dubokomorskim okolišima, na ledenjacima i vrlo velikim visinama. Obzirom da su neke vrste iznimno česte, rasprostranjenost dugoživaca može se držati kozmopolitskom. S druge strane, neki su vrlo rijetki i nađeni su tek na jednoj lokaciji. Općenito im rasprostranjenje po nadmorskoj visini pokazuje znatno veću pravilnost od one geografske, a neke vrste kao što su primjerice *Diphascon alpinum*, *Echiniscus lapponicus*, *E. capillatus*, *Oreela mollis*, *Adorybiotus coronifer* i dr. nalazimo samo iznad 1000 m nadmorske visine.

7. Zaključak

Ovim seminarским radom dat je tek jedan kratak pregled biologije i ekologije dugoživaca. Spoznaje na polju tardigradologije zapravo su znatne, bez obzira što su oni često negirani i zanemarivani u istraživanjima faune različitih staništa. Dugoživce stoga treba tretirati kao manje poznato, a ne opskurno ili manje značajno koljeno živoga svijeta, jer njihova brojnost i rasprostranjenost govore protiv toga. Tardigrada su skupina čije je sakupljanje i izolacija iz raznih materijala složen i mukotrpan posao, često sa slabim rezultatima. Uz to, determinacija je, kako je ovdje mnogo puta navedeno, skopčana sa raznim problemima i nerijetko iziskuje upotrebu složenijih metoda svjetlosne i elektronske mikroskopije. Na kraju, brojnost publikacija o dugoživcima u posljednjih dvadesetak godina značajno je porasla što je dokaz sve većeg interesa ne samo klasičnih ekologa i taksonoma, već i molekularnih biologa koji su poneke dugoživce prisvojili kao modelne organizme za istraživanje u biologiji razvoja, stresa, starenja i slično.

Dugoživci su u Hrvatskoj gotovo potpuno neistražena skupina i o njima postoji malo informacija. Slično je i sa mnogim drugim pripadnicima meiofaune. Sustavna istraživanja i inventarizacija nikada nisu provedeni, a za to nedvojbeno ima potrebe i potencijala. Samo neke mogućnosti su istraživanje faune dugoživaca morskih i krških slatkovodnih ekosustava, mahovina, lišajeva, podzemnih ekosustava i sl. I ovaj tekst je stoga napisan da osim ocjenskog rada, posluži prema potrebi drugih stručnjaka i kao uvod u tardigradologiju jer literature na našem jeziku nema.

8. Literatura

- Aguinaldo, A. M. A. et al. (1997) Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature* **387**: 489-493.
- Ammermann, D. (1962) Parthenogenese bei dem Tardigraden *Hypsibius dujardini* (Doy.). *Die Naturwissenschaften* **49**: 115-116.
- Baccetti, B. & Rosati, F. (1971) Electron microscopy on tardigrades. III. The Integument. *Journal of Ultrastructure Research* **34**: 214-243.
- Baumann, H. (1922) Die Anabiose der Tardigraden. *Zoologischer Anzeiger* **45**: 501-506.
- Baumann, H. (1961) Der Lebenslauf von *Hypsibius convergens* (H.) Urbanowicz (Tardigrada). *Zoologischer Anzeiger* **167**: 362-381.
- Beasley, C. (2001) Photokinesis of *Macrobiotus hufelandi* (Tardigrada, Eutardigrada). *Zoologischer Anzeiger* **240**: 233-236.
- Bell, G. (1982) *The Masterpiece of Nature: Evolution and Genetics of Sexuality*. Berkeley: University of California Press.
- Bergsten, J. (2005) A review of long-branch attraction. *Cladistics* **21**: 163-193.
- Bertolani, R. (1972) Sex ratio and parthenogenesis in *Macrobiotus* (Tardigrada). *Cellular and Molecular Life Sciences* **28**: 94-95.
- Bertolani, R. (1982) Cytology and reproductive mechanisms in tardigrades. U: Nelson, D. R. (Ed.), *Proceedings of the third international symposium on the Tardigrada* (pp. 93-114). Johnson City: East Tennessee State University Press.
- Bertolani, R. (1992) Tardigrada. U: Adiyodi, K. G. & Adiyodi R. G. (Eds.), *Reproductive biology of invertebrates. Vol. 5B: Sexual differentiation and behaviour* (pp. 255-266). New York: Wiley.
- Bertolani, R. (1994) Tardigrada. U: Adiyodi, K. G. & Adiyodi R. G. (Eds.), *Reproductive biology of invertebrates. Vol. VI: Asexual propagation and reproductive strategies* (pp. 25-37). New Delhi: Oxford and IBH Publication.
- Bertolani, R. et al. (2004) Experiences on dormancy in tardigrades. *Journal of Limnology* **63**: 16-25.
- Bussers, J. C. & Jeuniaux, C. (1973) Chitinous cuticle and systematic position of Tardigrada. *Biochemical Systematics* **1**: 77-78.
- Campbell, I. L. et al. (2011) MicroRNAs and phylogenomics resolve the relationships of Tardigrada and suggests that velvet worms are the sister group of Arthropoda. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**.

- Cavalier-Smith, T. (1998) A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews* **73**: 203-266.
- Claxton, S. (1996) Sexual dimorphism in Australian *Echiniscus* (Tardigrada, Echiniscidae) with descriptions of three new species. *Zoological Journal of the Linnean Society* **116**: 13-33.
- Copley, J. (1999) Indestructible. *New Scientist*. Issue No. 2209. www.newscientist.com/article/mg16422095.100-indestructible.html (pristupljeno: 2. 7. 2012.)
- Dastych, H. (1987) Two new species of Tardigrada from the Canadian Subartic with some note on sexual dimorphism in the family Echiniscidae. *Entomogische Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg* **129**: 319-334.
- Degma, P. & Guidetti, R. (2012) Notes to the current checklist of Tardigrada. *Zootaxa* **1579**: 41-53.
- Dewel, R. A. et al. (1993) Tardigrada. U: Harrison, F. W. & Rice, M. E. (Eds.) *Microscopic anatomy of invertebrates. Vol. 12: Onychophora, Chilopoda and lesser Protostomata* (pp. 143-183). Chichester: Wiley - Liss.
- Doyère, L. (1840) Memoires sur les Tardigrades. *Annales des Sciences Naturelles, Zool.* **14**: 269-362.
- Dunn, W. C. et al. (1998) Broad phylogenomic sampling improves resolution of the animal tree of life. *Nature* **452**: 745-749.
- Franić, M. (2010) *Fauna dugoživaca (Tardigrada) lišajeva*. Diplomski rad. Osijek: Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera.
- Giere, O. (2009) *Meiobenthology; The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Greven, H. (2007) Comments on the eyes of tardigrades. *Arthropod Structure & Development* **36**: 401- 407.
- Grigarick, A. A. et al. (1975) Morphogenesis of two species of *Echiniscus*. *Memoire dell'Istituto Italiano di Idrobiologia* **32**: 133-151.
- Guidetti, R. et al. (2000) Cuticle structure and systematics of the Macrobiotidae (Tardigrada, Eutardigrada). *Acta Zoologica* **81**: 21-36.
- Guidetti, R. et al. (2006) Encystment processes and the “Matrioshka-like stage” in a moss-dwelling and in a limnic species of eutardigrades (Tardigrada). *Hydrobiologia* **558**: 9-21.
- Hakenkamp, C. C. & Morin, A. (2000) The importance of meiofauna to lotic ecosystem functioning. *Freshwater Biology* **44**: 165-175.
- Hanken, J. & Wake, D. B. (1993) Miniaturization of body size: organismal consequences and evolutionary significance. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* **24**: 501-519.

- Henneke, J. (1911) Beiträge zur Kenntnis der Biologie und Anatomie der Tardigraden (*Macrobiotus macronyx* Duj.). *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie* **97**: 721-752.
- Hingley, M. (1993) *Microscopic life in Sphagnum*. Slough: Richmond Publishing Co. Ltd.
- Horikawa, D. D. et al. (2006) Radiation tolerance in the tardigrade *Milnesium tardigradum*. *International Journal of Radiation Biology* **82**: 843-848.
- Jönsson, K. I. & Bertolani, R. (2001) Facts and fiction about long-term survival in tardigrades. *Journal of Zoology* **255**: 121-124.
- Jönsson, K. I. (2007) Long-term experimental manipulation of moisture conditions and its impact on moss-living tardigrades. *Journal of Limnology* **66**: 119-125.
- Kristensen, R. (1978) On the fine structure of *Batillipes norrevangi* Kristensen 1978 (Heterotardigrada). 2. The muscle-attachments and the true cross-striated muscles. *Zoologischer Anzeiger* **200**: 173-184.
- Legg, W. M. (1942) *Collection, preparation and statistical study of fossil insects from chemawinite*. Senior thesis. Princeton: Princeton University, Department of Biology.
- Lindahl, K. & Balsler, S. (1999) Tardigrade Facts. Illinois Wesleyan University. www.iwu.edu/~tardisdtp/tardigrade_facts.html (pristupljeno: 3. 7. 2012.).
- Marcus, E. (1928) Zur Embryologie der Tardigraden. *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gessellschaft* **32**: 134-146.
- Marcus, E. (1929) Tardigrada. U: Bronn, H. G. (Ed.) *Klassen und Ordnungen des Tierreichs*. Vol. 5. (pp. 1-608). Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft.
- Massonneau, J. & May, R. M. (1950) Le pigment des Echinisciens. *Bulletin de la Société Zoologique de France* **75**: 87-195.
- Mihelčič, F. (1950) Zur Physiologie und Ökologie der Tardigraden. *Archivio Zoologico Italiano* **35**: 1-11.
- Morgan, C. I. (1977) Population dynamics of two species of Tardigrada, *Macrobiotus hufelandii* (Schultze) and *Echiniscus (Echiniscus) testudo* (Doyère), in roof moss from Swansea. *Journal of Animal Ecology* **46**: 263-279.
- Nelson, R. D. (1982) Developmental biology of the Tardigrada. U: Harrison, F. & Cowden, R. (Eds.) *Developmental Biology of Freshwater Invertebrates* (pp. 363-368). New York: Alan R. Liss.
- Nelson, R. D. (2001) Tardigrada. U: Thorp, H. J & Covich, P. A. (Eds.) *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, 2nd Edition (pp. 527-550). San Diego: Academic Press.

- Nelson, R. D. (2002) Current status of the Tardigrada: evolution and ecology. *Integrative and Comparative Biology* **42**: 652-659.
- Okuda, T. et al. (2006) Polypedilum vanderplanki: an anhydrobiotic insect as a potential tool for space biology. *36th COSPAR Scientific Assembly* **36**: 2237.
- Persson, D. et al. (2011) Extreme stress tolerance in tardigrades: surviving space conditions in low earth orbit. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **49**: 90-97.
- Pigèon, A. & Weglarska, B. (1953) The respiration of Tardigrada: a study in animal anabiosis. *Bulletin de la Academie Polonaise* **1**: 69-72.
- Rahm, G. (1924) Vorläufige Mitteilungen über die Anabiose der Wasserbewohnender Tardigraden und Rotatorien. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* **2**: 177-178.
- Ramazzotti, G. (1962) Il Phylum Tardigrada. *Memoire dell'Istituto Italiano di Idrobiologia* **16**: 345-595.
- Ramazzotti, G. & Maucci, W. (1983) The Phylum Tardigrada, 3rd Edition. English translation by Clark W. Beasley. *Memoire dell'Istituto Italiano di Idrobiologia* **41**: 1-1012.
- Ramløv, H. & Westh, P. (1992) Survival of the cryptobiotic eutardigrade *Adorybiotus coronifer* during cooling to -196°C : Effect of cooling rate, trehalose level, and short term acclimation. *Cryobiology* **29**: 125-130.
- Rebecchi, L. et al. (1999) Tardigrada. U: Jamieson, B. G. M. (Ed.) *Progress in Male Gamete Biology*, Vol. 9., Part B. New Delhi: Oxford and IBH.
- Rebecchi, L. et al. (2003) The spermatozoon of the Echiniscidae (Tardigrada, Heterotardigrada) and its phylogenetic significance. *Zoomorphology* **122**: 3-9.
- Ruppert, E. E. et al. (2004) *Invertebrate Zoology; a Functional Evolutionary Approach*. Belmont: Thomson – Brooks/Cole.
- Sanchez – Moreno, S. et al. (2008) Role of tardigrades in the suppressive service of a soil food web. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **124**: 187-192.
- Schmidt – Rhaesa, A. & Kulesa, J. (2007) Muscular architecture of *Milnesium tardigradum* and *Hypsibius* sp. (Eutardigrada, Tardigrada) with some data on *Ramazottius oberhaeuseri*. *Zoomorphology* **126**: 256-281.
- Sola-Penna, M. & Meyer-Fernandes, J. R. (1998) Stabilization against thermal inactivation promoted by sugars on enzyme structure and function: why is trehalose more effective than other sugars? *Archives of Biochemistry and Biophysics* **360**: 10–14.
- Sømme, L. (1996) Anhydrobiosis and cold tolerance in tardigrades. *European Journal of Entomology* **93**: 349-357.

Spallanzani, L. (1776) Opuscoli di fischia animale e vegetabile, Vol. 2., il Tardigrado etc. *Opuscolo* **4**: 222.

Suren, A. (1992) Meiofaunal communities associated with bryophytes and gravels in shaded and unshaded alpine streams in New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **26**: 115–125.

Suzuki, C. A. (2006) Ovarian structure in *Milnesium tardigradum* (Tardigrada, Milnesiidae) during early vitellogenesis. *Hydrobiologia* **558**: 61-66.

Telford, M. J. et al. (2008) The evolution of the Ecdysozoa. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, B: Biological Sciences* **363**: 1529–37.

von Erlanger, R. (1895) Beiträge zur Morphologie der Tardigraden: I. Zur Embryologie eines Tardigraden: *Macrobotus macronyx* Dujardin. *Morphologische Jahrbuch* **22**: 491 – 513.

Walossek, D. & Muller, K. J. (1998) Early arthropod phylogeny in light of the Cambrian 'Orsten' fossils. Pp. 185–231. U: Edgecombe, G. D. (Ed.), *Arthropod Fossils and Phylogeny*. New York: Columbia University Press.

Węglarska, B. (1990) Morphology of excretory organs in Eutardigrada. *Acta Biologica Cracoviense Series Zoologia* **31**: 63-70.

Westh, P. & Kristensen, R. M. (1992) Ice formation in the freeze-tolerant eutardigrades *Adorybiotus coronifer* and *Amphibolus nebulosus* studied by differential scanning calorimetry. *Polar Biology* **12**: 693 – 699.

Wolburg-Buchholz, K. & Greven, H. (1979) On the fine structure of the spermatozoon in *Isohypsibius granulifer* Thulin, 1928 (Eutardigrada) with reference to its differentiation. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Jagiellonskiego, Prace Zoologiczne* **25**: 191–197.

Zantke, J. et al. (2008) Three-dimensional reconstruction of the central nervous system of *Macrobotus hufelandi* (Eutardigrada, Parachela): implications for the phylogenetic position of tardigrada. *Zoomorphology* **127**: 21-36.

9. Sažetak

Ovaj završni seminarski rad bavi se općenitim prikazom biologije i ekologije dugoživaca. Dugoživci (Tardigrada) su protostomični beskralježnjaci mikroskopske veličine od 0,1 do 2 mm što ih svrstava u meiofaunu. Iako su im pripisivane različite sistematske kategorije, danas se smatraju pripadnicima nadkoljena Ecdysozoa. Opisano je preko tisuću vrsta podijeljenih u tri razreda. Relativno su jednostavne tjelesne građe slične onoj u člankonožaca, kolutićavaca i crvonožaca. Najpoznatiji su po sposobnosti ulaska u stanje kriptobioze, tj. preživljavanja niskih temperatura, suše, visokih doza zračenja i sl., iako to mogu i neke druge vrste. Evolucija dugoživaca nije u potpunosti jasna ali je otkriveno da su srodstveno ipak bliži crvonošcima nego oblicima. Geografski su široko rasprostranjeni po kopnenim, morskim i slatkovodnim biotopima. Njihova najpoznatija i najbolje istražena staništa su mahovine i lišajevi, no nađeni su i na ekstremnim staništima poput ledenjaka ili termalnih izvora. Ekološka uloga, kao i drugim pripadnicima meiofaune, im nije beznačajna što je dokaz kompleksnosti trofičkih odnosa na raznim mikrostaništima. Tardigradološka istraživanja u zadnjih deset godina su pojačana što je dokaz da dugoživci nisu opskurno, već manje poznato koljeno živog svijeta te da su izazov ne samo za klasičnu zoologiju već za fundamentalna istraživanja u znanosti o životu.

10. Summary

This undergraduate thesis finds its purpose in presenting general review of tardigrade biology and ecology. Tardigrades (Tardigrada) are protostomic invertebrates of microscopic size varying from 0,1 to 2 mm, what places them in meiofauna. Formerly they were assigned various systematic positions, but today tardigrades are considered members of Ecdysozoa superphylum. There are over thousand described species divided into three classes. Their fairly simple anatomy is similar to that found in arthropods, annelids and onychophorans. Cryptobiosis, i. e. surviving low temperatures, drought and high doses of radiation is the best known remark of tardigrades. Evolution of Tardigrada still remains partially unclear, but phylogenetic analyses have proven their closer relationship to onychophorans than nematodes.

Tardigrades have cosmopolitan distribution which extends from marine and freshwater, to terrestrial biotopes. Although mosses and lichens are the most common and best investigated tardigrade habitats, they were also recovered from glacier ice and hot springs.

Ecological role of tardigrades, as well as other meiofauna members is not negligible, and, in fact, proves complex trophic relationships on a broad range of microhabitats. Tardigradological investigations have been intensified during the last decade. Once again, that is a reminder tardigrades are not obscure, but less-known phylum of the living world, posing a challenge not only for classical zoology, but for fundamental life science research.

Zahvala

Interes za dugoživce razvio se zapravo posve slučajno i od kurioziteta prerastao u ozbiljniji posao, završni rad i volontersko istraživanje u sklopu laboratorijske prakse. Najveću zahvalnost dugujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Renati Matoničkin Kepčija na podršci u vezi bavljenja medvjedićima, sakupljenom materijalu, vremenu i volji da mi nabavi potreban pribor. Također zahvaljujem i doc. dr. sc. Marku Miliši koji mi je rado ustupao mjesto za svojom Zeissovom lupom bez koje bi dugoživci ostali nevidljivi. Neizravno je ovom radu mnogo pridonio i nedavno preminuli professor emeritus Clark W. Beasley, ugledni američki stručnjak za dugoživce sa McMurry University (Abilene, Texas, SAD) koji mi je proslijedio svoj neprocjenjiv prijevod monumentalnog djela o dugožvcima „The Phylum Tardigrada“ originalno napisanog na talijanskom jeziku.