

Važnost trepetljikaša u kontroli patogenih mikroorganizama

Runtić, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:217:800483>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**Važnost trepetljikaša u kontroli patogenih
mikroorganizama**

**The importance of ciliates in control of pathogenic
microorganisms**

SEMINARSKI RAD

Ana Runtić

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Renata Matoničkin Kepčija

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. TREPETLJIKASI	2
2.1. Opće značajke.....	2
2.2. Pokretanje.....	3
2.3. Jezgri dimorfizam i razmnožavanje.....	3
2.4. Biološka raznolikost.....	4
3. PREHRANA TREPETLJIKASA	5
4. KONTROLA PATOGENIH MIKROORGANIZAMA	6
4.1. Patogene bakterije.....	6
4.2. Patogene parazitske praživotinje.....	9
4.3. Gljivice.....	10
5. ZAKLJUČAK	11
6. LITERATURA	12
7. SAŽETAK	19
8. SUMMARY	19

1. UVOD

Patogeni mikroorganizmi su mikroorganizmi koji uzrokuju bolesti čime ugrožavaju organizme koje inficiraju. U njih se ubrajaju pojedine vrste gljivica, parazitskih praživotinja, virusa, a najčešće se misli na patogene bakterije poput *Salmonella* spp. Patogeni mikroorganizmi uglavnom negativno utječu na biološku raznolikost, ekosustave i time na ljudske živote. Navedeno je potaknulo znanstvenike i stručnjake da se istraže načini na koje se može boriti i zaštititi od patogena.

Trepetljikaši (lat. Ciliata, Ciliophora) čine veliku homogenu skupinu praživotinja monofiletskog porijekla. Većinom žive u slatkovodnim ekosustavima, moru i tlu te su uglavnom slobodnoživući, plivajući organizmi (Habdija i sur., 2011), koji su razvili razne tipove prehrane kao prilagodbu na drugačija mikrostaništa. Ovisno o njihovoj veličini, ali i veličini plijena, često su specijalizirani za određenu vrstu hrane (Vidal Siqueira-Castro i sur., 2016; prema Verity, 1991; Strom i Loukos 1998). Neke vrste su predatori i imaju razvijenu oralnu trepetljikavost kao prilagodbu takvom načinu prehrane. U vodenim ekosustavima su posebno važne bakteriovorne vrste trepetljikaša. Smatraju se najvažnijim organizmima koji „pasu“ mikroorganizme (Finlay i sur., 1998), među kojima su i neke patogene vrste. Na taj način trepetljikaši kontroliraju veličine njihovih populacija, čime uspostavljaju ravnotežu u biosustavima. Isto je prepoznato kao potencijalno kvalitetna metoda biokontrole u svakodnevnicima na način da se regulira (smanjuje) brojnost patogena u pitkim vodama (Sibille i sur., 1998), ali također i u prehrambenoj industriji na površinama koje se koriste za proizvodnju, preradu i skladištenje hrane (Vaerewijck i sur., 2014).

2. TREPETLJIKASI

2.1. Opće značajke

Osim karakterističnim trepetljikama, trepetljikaši se odlikuju i određenom građom korteksa, jezgrenim dimorfizmom i konjugacijom. Pripadaju potkoljenu Ciliophora koje je zbog specifične građe pelikule zajedno s Dinoflagellata i Apicomplexa dio većeg monofiletskog taksona Alveolata. Uz brojne slobodnoživuće oblike postoji manji broj zadružnih i sesilnih vrsta (Habdija i sur., 2011). Široko su rasprostranjeni u sedimentu slatkovodnih ekosustava, gdje su najbrojnija skupina praživotinja (Finlay i sur., 1998), u morima te na i u tlu u kapilarnoj vodi. Većina vrsta je asimetrična, različitih su oblika i veličine od 10 µm do 4,5

mm (Habdija i sur., 2011). Svi su hetrotrofi i smatraju se najbrojnijim fagotrofnim organizmima u biosferi (Corliss, 2002; prema Finlay i sur., 1998).

Kao i ostale praživotinje čija su staništa hipotonične sredine imaju, ovisno o vrsti, jedan ili više stežljivih mjehurića čija je uloga osmoregulacija, a ispražnjuju se kroz pore na pelikuli zbog čega imaju stalan položaj. Stežljive mjehuriće imaju i neke morske vrste, ali su njihove pulzacije rjeđe od onih u slatkovodnim organizmima (Matoničkin i sur., 1998).

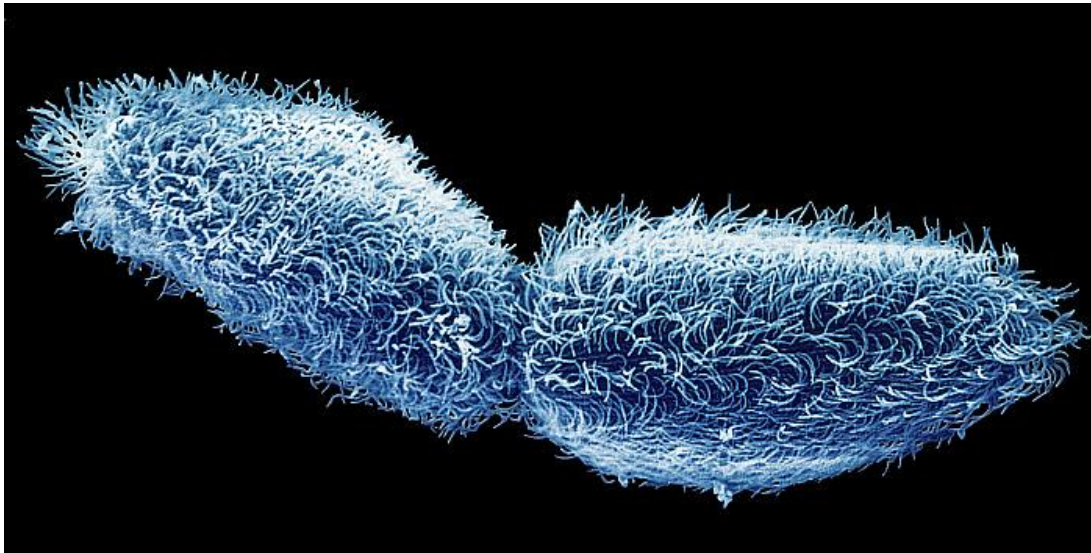
2.2. Pokretanje

Trepetljikaši su najbrže praživotinje čija je brzina od 0,4 do 2 mm/s. Za kretanje im služe trepetljike i složene trepetljikave strukture. Udaranje trepetljika je sinkronizirano jer je kretanje jedne trepetljike povezano sa susjednom pa se na taj način udaranje provodi do svih trepetljika u nizu. Smjer i intenzitet takvog gibanja trepetljika su regulirani promjenama u koncentraciji Ca^{2+} i K^{+} iona oslobođenih iz alveolarnih spremnika u pelikuli. Trepetljike izlaze iz bazalnog tijela koje je smješteno u korteksu, a građene su od jednog središnjeg para i devet perifernih parova mikrotubula. Udaranje trepetljika se može podijeliti u dvije faze: efektivni udarac prilikom kojeg trepetljika pokreće vodu i organizam se kreće u suprotnom smjeru od udarca te povratni zamah kada se trepetljika valovito savija pod pravim kutom (Habdija i sur., 2011). Kod sesilnih organizama je moguća samo kontrakcija drška ili skraćivanje cijelog tijela, a to omogućuje skraćivanje mionema (Matoničkin i sur., 1998).

2.3. Jezgreni dimorfizam i razmnožavanje

Jedna od specifičnosti trepetljikaša je to što imaju jedan ili više diploidnih mikronukleusa i jedan ili više većih, polimorfnih, poliploidnih makronukleusa. Uloga mikronukleusa je pohranjivanje i rekombinacija genetičkog materijala, a makronukleus obavlja genetičku kontrolu fenotipa (Matoničkin i sur., 1998). Samo mikronukleus prolazi pravilno mejotičko ili mitotičko dijeljenje dok tijekom kariogeneze makronukleusa nema nastajanja diobenog vretena, a razdvajanje novonastalih makronukleusa nije sasvim jasno. Tijekom konjugacije dvije spolno zrele jedinke se spoje za vrijeme plivanja na području usta pomoću ljepljive supstance i ostanu tako spojene nekoliko sati. U konjugaciji sudjeluju samo mikronukleusi dok makronukleusi degeneriraju u oba konjuganta i ponovno nastaju nakon završetka konjugacije iz modificiranog mikronukleusa. Da bi organizam bio zreo za konjugaciju mora proći brojne diobe. Zbog reproduktivne izoliranosti mogu konjugirati samo pripadnici istog

singena. Konjugacija trepetljikašima služi samo kao izmjena genetičkog materijala, a nakon nje uvijek slijedi poprečna binarna dioba (Slika 1). Tijekom dijeljenja se novo usno područje razvije na posteriornoj polovici, a citoprokt na anteriornoj polovici stanice. Sesilni oblici se razmnožavaju engzogenim ili endogenim pupanjem (Habdija i sur., 2011).



Slika 1. Binarna fizija trepetljikaša *Paramecium* pod elektronskim mikroskopom. Preuzeto iz Nature picture library (2018).

2.4. Biološka raznolikost

Od prvih opisa trepetljikaša Antonie van Leeuwenhoek pa do danas trepetljikaši su otkriveni u gotovo svim staništima gdje ima dovoljno vode za njihovo preživljavanje (Warren i sur., 2017). Opisano je otprilike 8 000 vrsta od kojih je većina slobodnoživućih, a ostali su simbionti, komenzali ili pak paraziti na ribama, sisavcima, beskralježnjacima i drugim trepetljikašima (Habdija i sur., 2011). Zahvaljujući velikom broju novootkrivenih staništa, razvoju metagenomike i sekvenciranja okolišnih podataka broj vrsta je u zadnje vrijeme naglo porastao. Vrste se najčešće razvrstavaju na temelju morfoloških značajki kao što je tip somatične i oralne infracilijature, rjeđe na temelju ponašanja i zahvaljujući novim tehnologijama na temelju molekularnih značajki. Iako je poznato mnogo vrsta, još ima dosta neotkrivenih. Jedan od razloga tome je njihova veličina koja otežava identifikaciju novih vrsta. Potkraj prošlog stoljeća su razvijene nove metode poput sekvenciranja gena i vizualizacije trepetljikaša kojima se olakšava taksonomska identifikacija i opisivanje vrsta, ali njihova upotreba još nije standardizirana (Warren i sur., 2017). Neki od razreda trepetljikaša su Karyorelictea, Heterotrichida (raznotrepetljikaši), Spirotricha (zavojnotrepetljikaši) te

Oligohymenophorea koja je najrasprostranjenija i najistraženija skupina i tu pripada najpoznatiji trepetljikaš *Paramecium caudatum* (Habdija i sur., 2011).

3. PREHRANA TREPETLJIKAŠA

Glavni alat u prehrani su trepetljike i njihove specijalizirane strukture koje se zbog svoje raznolikosti često koriste za taksonomiju. Svi trepetljikaši, osim parazitskih vrsta, uzimaju hranu fagocitozom (Matoničkin i sur., 1998) i mogu biti detritovori, bakteriovori, herbivori ili predatori (Habdija i sur., 2011). Prema načinu hranjenja bi se mogli podijeliti na grabežljivce, one koji se hrane filtriranjem vode ili difuzijom (Finlay i sur., 1998.). Većina grabežljivih vrsta ima trihite koji okružuju usnu šupljinu ili mogu jako otvoriti usta što im omogućuje da se hrane većim organizmima (Matoničkin i sur., 1998). Primjer je trepetljikaš *Didinium nasutum* koji ima sposobnost raširiti cistom toliko da može progutati papučicu koja je dvostruko veća (Slika 2). S druge strane vrste koje filtriraju vodu su manje i sadrže posebne organele poput undularne membrane, membranela i adoralne zone membranela koji stvaraju strujanje vode pomažući tako pri filtriranju hranjivih čestica iz vode (Habdija i sur., 2011). Na prehranu utječe veličina plijena, pa se manje vrste hrane manjim organizmima poput bakterija, a veći trepetljikaši jednostaničnim algama, filamentoznim cijanobakterijama, drugim praživotinjama, ponekad kolnjacima i drugim organizmima mikrozooplanktona (Finlay i sur., 1998). Osim veličine bitno je i fiziološko stanje plijena i kemikalije koje otpušta, već spomenuta veličina samog trepetljikaša, njegov tip hranjenja i ponašanje (Vaerewijck i sur., 2014; prema Ayo i sur., 2009; Hamels i sur., 2004). Najjednostavnije vrste imaju oralnu aparaturu koja obuhvaća citostom i citofarinks. Oni, ovisno o vrsti, imaju svoj određeni položaj u stanici. U većine trepetljikaša se još prije citostoma nalazi preoralna komorica koja pomaže u hvatanju i probavljanju hrane, a može biti u obliku vestibuluma ili se naziva usna šupljina odnosno peristom koji sadrži već spomenute posebne organele za strujanje vode (Habdija i sur., 2011). Nakon što se dođe do hrane jednim od navedenih načina ona se okruži membranom i nastane hranjivi mjehurić na kraju citofarinksa, a kada se odvoji od njega počinje cirkularno gibanje po citoplazmi dok traje hidrolitička razgradnja (Matoničkin i sur., 1998). Prije probavljanja je potrebno da se hranjivi mjehurić spoji s lizosomom i manjim acidosomima koji onda zajedno čine probavni mjehurić. Kada razgradnja završi, hranjive tvari se pohrane u obliku glikogena i raspršenih masnih kapljica po citoplazmi, a neprobavljeni ostaci se izbace egzocitozom kroz citoprokt (Habdija i sur., 2011).



Slika 2. Trepetljikaš *Didinium nasutum* guta *Paramecium caudatum*. Preuzeto iz Science Source images (2020).

4. KONTROLA PATOGENIH MIKROORGANIZAMA

Trepetljikaši, kao predatori mikroorganizama, imaju vrlo važnu ulogu u vodenim ekosustavima gdje „ispašom“ mikroorganizama, a posebice bakterija, modificiraju veličine njihovih populacija smanjujući ih i sudjeluju u regeneraciji organskih tvari i anorganskih nutrijenata (Vidal Siqueira-Castro i sur., 2016; prema Dopheide i sur., 2009; Nawrot i sur., 2012, 2014).

Pored bakteriovornih vrsta trepetljikaša postoje i oni specijalizirani za druge vrste patogena poput parazitskih praživotinja i nekih gljivica koje predstavljaju veliku opasnost za biološku raznolikost ekosustava.

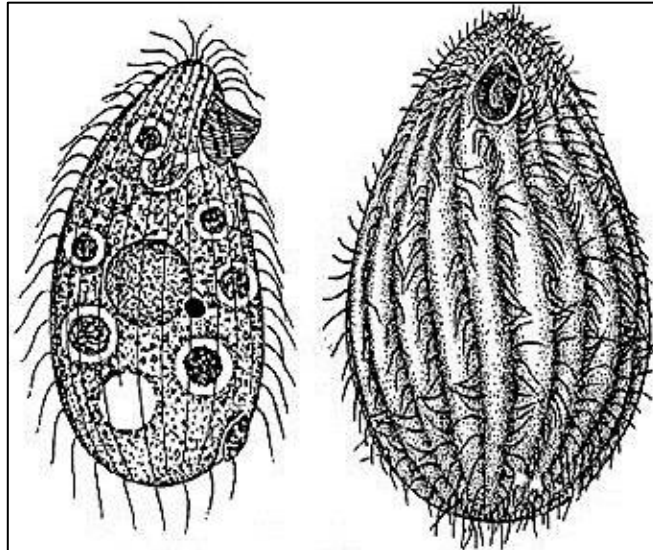
4.1. Patogene bakterije

Većina bakterija je bezopasna, mnoge su i korisne, ali postoje i patogene vrste koje uzrokuju bolesti u drugim organizmima, a kako su pronađene u sustavima pitke vode (Sibille i sur., 1997; prema Camper i sur., 1994; Fass i sur., 1996; LeChevallier i sur., 1990; Morin i sur., 1996; Verity i sur., 1988) i u hrani koju konzumiraju ljudi, ugrožavaju i njihovo zdravlje. To je potaknulo da se zadnjih par desetljeća intenzivno istražuju interakcije slobodnoživućih

praživotinja i patogenih bakterija jer bi se tim mehanizmima mogao kontrolirati broj patogena ne samo u prirodnim ekosustavima, već i u umjetno stvorenim sredinama poput pročišćivača voda. U te slobodnoživuće praživotinje se ubrajaju i trepetljikaši, točnije neke manje vrste koje „pasu“ bakterije, a zatim su i sami hrana nekim manjim beskralježnjacima. Na taj način vraćaju nutrijente poput dušika i fosfora natrag u okoliš kako bi ih drugi organizmi mogli koristiti zbog čega su važan dio kompleksnih hranidbenih lanaca koji započinju bakterijama (Vaerewijck i sur., 2014; prema Bonkowski 2004). Trepetljikaši mogu izravno unositi bakterije „pasući“ ih ili indirektno hraneći se bakteriovornim bičama (Epstein i sur., 1992).

Bakterije su sveprisutni organizmi i lako se mogu prilagoditi različitim životnim uvjetima jer stvaraju obrambene mehanizme koji im omogućuju preživljavanje. Tako su razvile i nekoliko antipredatorskih mehanizama poput redukcije veličine stanice, modifikacije morfologije stanice i nekih karakteristika stanične stijenke, bržeg kretanja, sinteze toksina i formiranja mikrokolonija. Uz to imaju i razvijenu vrstu međusobne komunikacije kojom upozoravaju susjedne bakterije na opasnost (Vaerewijck i sur., 2014; prema Hahn i Höfle, 2001; Matz i Kjelleberg, 2005; Pernthaler 2005; Jousset 2012). Stvaranje biofilma je još jedan oblik obrane, ali se pokazao neuspješnim jer trepetljikaši, za razliku od ameba i bičava, mogu „pasti“ bakterije i u tom obliku čime su se pokazali iznimno učinkovitim u borbi protiv patogenih bakterija (Sibille i sur., 1997).

Trenutno se prilikom provjere kvalitete i sigurnosti hrane, ali i pitke vode, traži prisutnost patogenih bakterija, plijesni, parazitskih praživotinja, virusa, oblića, ali rijetko i trepetljikaša. Saznanjem da neki rodovi poput *Cyclidium*, *Colpoda*, *Glaucoma* i *Tetrahymena* mogu poslužiti kao rezervoari patogenih bakterija i na taj ih način unijeti u ljudski organizam te zaštititi od imunosnog sustava, trepetljikaši postaju potencijalni dio zdravstvenih problema. Većina istraživanja se provodi na *Tetrahymena* spp., točnije na vrstama *Tetrahymena pyriformis* (Slika 3) i *Tetrahymena thermophila* koje se često koriste kao eukariotski modelni organizmi u brojnim istraživanjima u genetici, molekularnoj biologiji te za određivanje ekotoksikološkog učinka nekih kemikalija (Vaerewijck i sur., 2014; prema Sauvant i sur., 1999; Gerhardt i sur., 2010; Eisen i sur., 2006).



Slika 3. *Tetrahymena pyriformis*. Preuzeto iz <http://ciliateguide.myspecies.info/file-colorboxed/419>.

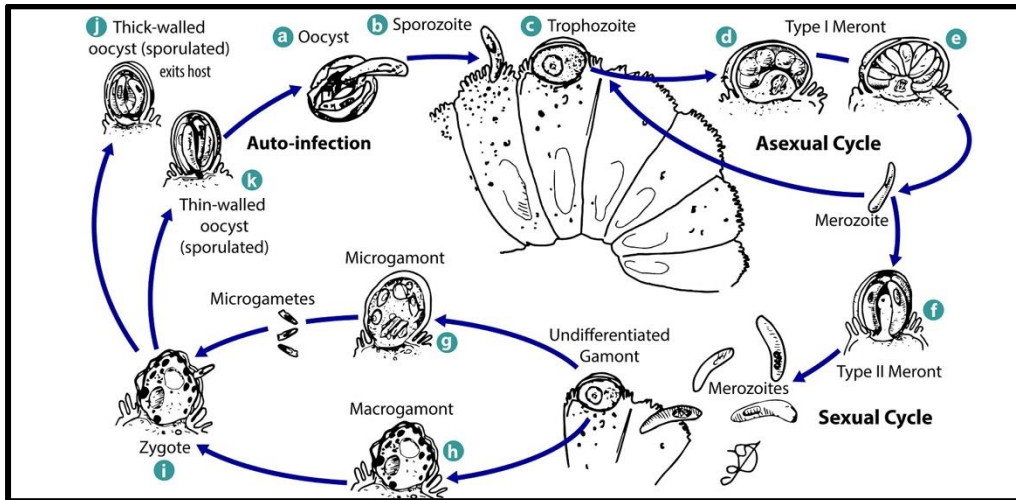
Trepetljikaši su zajedno s nekim amebama i bičamašama pronađeni u sustavima pitke vode (Vaerewijck i sur., 2014; prema Snelling i sur., 2005, 2006; Baré i sur., 2009, 2011), isto tako i u pitkoj vodi koja se distribuira u bocama na policama trgovina, na površinama koje se koriste u mesnoj industriji prilikom prerađivanja proizvoda (Vaerewijck i sur., 2014; prema Vaerewijck i sur., 2008), a i sastavni su dio kućne mikrobiote gdje se uglavnom nalaze u hladnjaku na lisnatom povrću poput zelene salate i špinata te na gljivama (Vaerewijck i sur., 2014; prema Napolitano, 1982; Gourabathini i sur., 2008; Vaerewijck i sur., 2011). Prethodno navedeno su i staništa nekih patogenih bakterija poput *Salmonella enterica*, *Listeria monocitogenes* te O157:H7 i K-12, patogenih sojeva bakterije *Escherichia coli*. One su razvile otpornost na trepetljikaše tako što prežive probavljanje, ali na to može utjecati i nesposobnost trepetljikaša da razgradi odgovarajuću bakteriju ili okolišni uvjeti poput temperature. Bakterije mogu imati i koristi od trepetljikaša jer je u njima moguća dioba, preživljavanje nepovoljnih uvjeta te prijenos na veće udaljenosti zahvaljujući velikoj pokretljivosti trepetljikaša (Vaerewijck i sur., 2014). Osim toga pokazalo se da trepetljikaši povećavaju frekvenciju konjugacije bakterija. Konjugacija je naime vrlo važna za bakterije kao jedan od horizontalnih prijenosa gena kojim mogu primiti nove gene i na taj način razviti nova svojstva poput otpornosti na antibiotike pa neke bakterije izađu virulentnije nego što su bile (Matsuo i sur., 2010). Uz to trepetljikaši mogu izlučivati neke vitamine, koenzime, aminokiseline i nukleotide koje, zajedno s produktima njihovog liziranja, bakterije koriste kao supstrate za proizvodnju svojeg staničnog materijala. Taj fenomen je zabilježen kada se u prisustvu vrste *Tetrahymena pyriformis* naglo povećao broj bakterijskih stanica (Sigona i sur., 2020; prema Ratsak i sur., 1996; Sambanis i Fredrickson, 1988).

4.2. Patogene parazitske praživotinje

Povećanje ljudske populacije i zagađenje vodenih površina smanjili su količinu pitke vode čiju kvalitetu narušavaju još i neke parazitske vrste praživotinja. Praživotinje se smatraju najčešćim patogenim parazitima pronađenima u uzorcima vode uzetim iz okoliša. Svake godine zbog zdravstveno nekvalitetne vode umiru milijuni ljudi, ponajviše djeca što patogene praživotinje čini jednim od svjetskih zdravstvenih problema zemalja u razvoju, ali i razvijenih zemalja. Mogu se pronaći u pitkim vodama, tlu i ponekad hrani jer se najčešće prenose fekalnim onečišćenjem voda, a inficiraju ljude i životinje (Rosado-García i sur., 2017; prema Baldursson and Karanis, 2011; Efstratiou et al., 2017; Karanis et al., 2007; Plutzer and Karanis, 2016). Kao zaštitu od nepovoljnih uvjeta izlučuju zaštitne čahure, ciste. U tom obliku organizam stvara debelu ovojnicu, organeli za kretanje, uzimanje i probavljanje hrane se razgrade i svi životni procesi se reduciraju (Habdija i sur., 2011). Neke patogene vrste praživotinja su iznimno opasne jer uzrokuju bolesti respiratornog i središnjeg živčanog sustava dok se manje opasne nalaze u probavnom sustavu domadara i uzrokuju dijareju (Safe Drinking Water Foundation, 2020). *Giardia* spp. i *Cryptosporidium* spp. su uzročnici većine globalnih slučajeva dijareje (Vidal Siqueira-Castro i sur., 2016; prema; Baldursson i Karanis, 2011; Kotloff i sur., 2012; Swaffer i sur., 2014).

Giardia spp. je anaerobni parazitski bičlaš koji parazitira u tankom crijevu sisavaca, ptica, gmazova i vodozemaca. U kiseloj okolini, kao što je ona u želucu, stvara ciste i prelazi u vegetativni oblik te se pričvrsti za mukoznu ovojnicu tankog crijeva (Adam, 1991). Ciste ju štite od nepovoljnih okolišnih uvjeta zbog čega duže vremena može preživjeti van tijela domaćina. Pronađena je u tlu, hrani i vodi koja je izložena fecesu zaraženih osoba ili životinja (Centers for Disease Control and Prevention, 2015).

Cryptosporidium spp. se razmnožava i raste u epitelnim stanicama sustava kralježnjaka. Pronađen je još krajem 19. stoljeća, a može zaraziti velik broj životinja kao i samog čovjeka (Fayer i sur., 1986). Uzrokuje bolest kriptosporidiozu i ima specifičan životni ciklus (Slika 4) u kojem može mijenjati domaćine ili biti prilagođen jednome. Prenosi se u obliku oocista koje sadrže sporozoite, a do infekcije može doći zaraženom vodom, hranom ili preko životinja. (MSD priručnik dijagnostike i terapije, 2014).



Slika 4. Životni ciklus patogena *Cryptosporidium* spp.. Preuzeto i prilagođeno iz Centers for Disease Control and Prevention (2019).

Oociste i ciste spomenutih patogena su plijen trepetljikašima poput vrsta *Euplotes aediculatus*, *Oxytrichia granulifera*, *Stentor coeruleus* te *Vorticella convallaria*. Neki od njih imaju i membranele koje im pomažu pri hranjenju. Kako su oociste i ciste oblici zaštitnih čahura još nije potvrđeno da se one u potpunosti probave unutar hranjivih mjehurića i da ne prežive zbog čega su potrebna dodatna istraživanja. Navedene vrste se češće hrane oocistama roda *Cryptosporidium*, nego cistama roda *Giardia* budući su one veće. Ovakva interakcija trepetljikaša i patogenih praživotinja je od iznimno velikog značaja jer bi se na taj način mogla održavati odgovarajuća brojnost tih patogena u otpadnim vodama koje sve češće kontaminiraju vode korištene za piće što znači da bi trepetljikaši svojim djelovanjem mogli poboljšati kvalitetu vode i time spasiti živote (Vidal Siqueira-Castro i sur., 2016).

4.3. Gljivice

Hitrid gljivica *Batrachochytrium dendrobatidis* pripada redu Chytridiomycota i uzročnik je letalne kožne bolesti u vodozemaca pod nazivom hitridiomikoza (Voyles i sur., 2011). Smatra se velikom prijetnjom globalnoj bioraznolikosti, ekosustavima pa čak i ekonomiji.

Uzrokovala je smrtnost više od jedne trećine vrsta vodozemaca zbog čega se može reći da je prouzročila njihovo veliko masovno izumiranje. Infektivne zoospore služe prijenosu gljivice koje se gibaju dok ne pronađu odgovarajućeg domaćina, vežu se za njega, ulaze u njega te iskorištavaju njegove nutrijente za daljnji razvoj do zoosporangija koji stvara nove zoospore koje se otpuštaju u vodu (Frenken i sur., 2019; prema Canter i sur., 1967; Kanouse i sur., 1932). Mehanizmi ulaska u stanicu još nisu poznati, ali su zoospore pronađene samo u

keratinoznim stanicama poput onih u epidermalnim slojevima *stratum granulosum* i *stratum corneum* te na usnim dijelovima punoglavaca. Pokazatelji infekcije su abnormalnosti na koži poput hiperplazija i zadebljanja sloja *stratum corneum* te promjene u dubljim slojevima epiderme gdje dolazi do degradacije citoplazme i vakuolizacije. Kritičnu ulogu u infektivnosti gljivice ima njena reproduktivnost odnosno količina zoospora, točnije što ih je više to je infektivnost intenzivnija i veća kao i vjerojatnost da će domaćin uginuti. Na rast i razvoj *Batrachochytrium dendrobatidis* utječe temperatura okoline pa je tako optimalni raspon temperature od 17°C do 23°C, ali može rasti i na nižim temperaturama dok pri temperaturi od 30°C i više ugibaju (Voyles i sur., 2011; prema Piotrowski i sur., 2004; Woodhams i sur., 2008).

Trenutačna borba protiv ove vrlo opasne gljivice se temelji na smanjenju njihovih populacija ili eliminaciji što se postiže fungicidima i modifikacijom okolišnih uvjeta poput temperature i saliniteta. Kemikalije koje se pritom koriste su često vrlo štetne za ekosustave i nisu više učinkovite nakon nekog vremena jer zoospore razvijaju otpornost na njih. Zato je potrebno pronaći nove alternativne metode koje će učinkovito i dugotrajno eliminirati ovu gljivicu s minimalnim posljedicama na okoliš (Frenken i sur., 2019). Jedna od takvih metoda bi moglo biti korištenje trepetljikaša kao predatora infektivnih zoospora čime bi se smanjila njihova brojnost i rasprostranjenost, a time i infektivnost same gljivice. Neke vrste kao *Paramecium caudatum* i *Paramecium aurelia* su se pokazale iznimno uspješne u tome zbog čega postoji mogućnost da se prirodnim putem kontroliraju patogeni, ali za sigurnost takve vrste biološke kontrole potrebna su daljnja proučavanja (Schmeller i sur., 2014).

5. ZAKLJUČAK

Uz brojne kvalitativne i kvantitativne informacije o trepetljikašima, koji bi svojom prehranom mogli imati potencijalnu ulogu u kontroli patogenih mikroorganizama i izvan prirodnih ekosustava, još uvijek postoji velik broj nepoznanica o mehanizmima njihove interakcije s patogenima zbog čega se još ne mogu smatrati sigurnim načinom biokontrole.

Kako je dokazano da patogene bakterije mogu iskoristiti trepetljikaše za prijenos, razmnožavanje, preživljavanje i povećanje virulentnosti, potrebno je provesti mnoga istraživanja u tom području kako bi se zaključilo kakav utjecaj trepetljikaši i njihovo ponašanje imaju na zdravlje ljudi, ali i ostalih organizama. Ako se ustanovi da su dio zdravstvenog problema neophodno je izmijeniti mikrobiološke standarde za kvalitetu vode i

hrane tako da se prilikom ispitivanja hrane i vode u obzir uzme i prisutnost trepetljikaša, čime bi se utjecalo na smanjenje mogućnosti zaraze patogenim bakterijama kojima su oni potencijalni domaćini.

Potvrda ove hipoteze iziskuje još čitav niz testiranja i proučavanja ponašanja trepetljikaša i patogena koji su kao dio obrane razvili mogućnost preživljavanja probave u hranjivim mjehurićima trepetljikaša.

6. LITERATURA

Adam R. D., (1991): The biology of *Giardia* spp., *Microbiological Reviews* 55, 706-732

Ayo B., Latatu A., Artolozaga I., Jürgens K., Iriberry J., (2009): Factors affecting preference responses of the freshwater ciliate *Uronema nigricans* to bacterial prey, *Journal of Eukaryotic Microbiology* 56, 188–193

Baldursson S., Karanis P., (2011): Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010, *Water Research* 45, 6603–6614

Baré J., Houf K., Verstraete T., Vaerewijck M., Sabbe K., (2011): Persistence of free-living protozoan communities across rearing cycles in commercial poultry houses, *Applied Environmental Microbiology* 77, 1763–1769

Baré J., Sabbe K., Van Wichelen J., van Gremberghe I., D'hondt S., Houf K., (2009): Diversity and habitat specificity of free-living protozoa in commercial poultry houses, *Applied Environmental Microbiology* 75, 1417–1426

Bonkowski M., (2004): Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited, *New Phytology* 162, 617–631

Camper, A. K., (1994): Coliform regrowth and biofilm accumulation in drinking water systems, u G. G. Geesey, Z. Levandowski i H. C. Flemming (ed.): Biofouling and biocorrosion in industrial water systems, *Lewis Publishers*, New York, 91–105

Canter, H. M., (1967): Studies on British chytrids: XXVI. A critical examination of

Zygorhizidium melosirae Canter and *Z. planktonicum* Canter, *Botanical Journal of the Linnean Society* 60, 85–97

Centers for Disease Control and Prevention (2019).

https://www.cdc.gov/dpdx/cryptosporidiosis/modules/Cryptosporidium_LifeCycle_lg.jpg

Pristupljeno: 13.08.2020.

Centers for Disease Control and Prevention (2015).

<https://www.cdc.gov/parasites/giardia/index.html> Pristupljeno: 11.08.2020.

Corliss J. O., (2002): Biodiversity and biocomplexity of the protists and an overview of their significant roles in maintenance of our biosphere, *Acta Protozoologica* 41, 199-219

Dopheide A., Lear G., Stott R., Lewis G., (2009): Relative diversity and community structure of ciliates in stream biofilms according to molecular and microscopy methods, *Applied Environmental Microbiology* 75, 5261– 5272

Efstratiou A., Ongerth J. E. i Karanis P., (2017): Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011-2016, *Water Research* 114, 14–22

Eisen J. A., Coyne R. S. C., Wu M., Wu D., Thiagarajan M., Wortman J. R., Badger J. H., Ren Q., Amedeo P., Jones K.M., Tallon L.J. i sur., (2006): Macronuclear genome sequence of the ciliate *Tetrahymena thermophila*, a model eukaryote, *PLoS Biol* 4(9), 286

Epstein S. S., Burkovsky I. V., Shiaris M. P., (1992): Ciliate grazing on bacteria, flagellates, and microalgae in a temperate zone sandy tidal flat: ingestion rates and food niche partitioning, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 165, 103-123

Fass S., Dincher M. L., Reasoner D. J., Gatel D., i Block J. C., (1996): Fate of *Escherichia coli* experimentally injected in a drinking water distribution pilot system, *Water Resistant* 30, 2215–2221

Fayer R. i Ungar B. L., (1986): *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis, *Microbiology*

and Molecular Biology Reviews 50(4), 458-483

- Finlay B. J. i Esteban G. F., (1998): Freshwater protozoa: biodiversity and ecological Function, *Biodiversity and Conservation* 7, 1163-1186
- Finlay B. J., Esteban G. F., Fenchel T., (1998): Protozoan diversity: converging estimates of the global number of free-living ciliate species, *Protist* 149, 29-37
- Frenken T., Agha R., Schmeller D. S., van West P., Wolinska J., (2019): Biological Concepts For the Control of Aquatic Zoosporic Diseases, *Trends in Parasitology* 35, 571-582
- Gerhardt A., Ud-Daula A., Schramm K-W., (2010): *Tetrahymena* spp. (Protista, Ciliophora) as test species in rapid multilevel ecotoxicity tests, *Acta Protozoologica* 49, 271–280
- Gourabathini P., Brandl M. T., Redding K. S., Gunderson J. H., Berk S. G., (2008): Interactions between food-borne pathogens and protozoa isolated from lettuce and spinach, *Applied Environmental Microbiology* 74, 2518–2525
- Habdija I., Primc Habdija B., Radanović I., Špoljar M., Matoničkin Kepčija R. i sur., (2011): Protista-Protozoa-Metazoa-Invertebrata, Strukture i Funkcije, 1. izdanje, Zagreb, Alfa, str. 17-34 i 51-60
- Hahn M. W., Höfle M. G., (2001): Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria, *FEMS Microbiological Ecology* 35, 113–121
- Hamels I., Mussche H., Sabbe K., Muylaert K., Vyverman W., (2004): Evidence for constant and highly specific active food selection by benthic ciliates in mixed diatoms assemblages, *Limnol Oceanography* 49, 58–68
- Jousset A., (2012): Ecological and evolutive implications of bacterial defences against predators, *Environmental Microbiology* 14, 1830–1843
- Kanouse, B. B., (1932): A physiological and morphological study of *Saprolegnia parasitica*, *Mycologia* 24, 431–452

- Karanis P., Kourenti C. i Smith H., (2007): Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt, *Journal of Water and Health* 5(1), 1–38
- Kotloff K. L., Blackwelder W. C., Nasrin D., Nataro J. P. i sur., (2012): The Global Enteric Multicenter Study (GEMS) of diarrheal disease in infants and young children in developing countries: epidemiologic and clinical methods of the case/control study, *Clinical Infection Diseases* 55, 232–245
- LeChevallier, M. W. (1990): Coliform regrowth in drinking water, *Journal American Water Works Association* 82, 74–86
- Matoničkin I., I. Habdija i Primc Habdija B., (1998): Beskralješnjaci, *Biologija nižih Avertebrata*, Zagreb, Školska knjiga, str. 161-180
- Matsuo J., Oguri S., Nakamura S., Hanawa T. i sur., (2010): Ciliates rapidly enhance the frequency of conjugation between *Escherichia coli* strains through bacterial accumulation in vesicles, *Research in Microbiology* 161, 711-719
- Matz C., Kjelleberg S., (2005): Off the hook: how bacteria survive protozoan grazing, *Trends in Microbiology* 13, 302–307
- Morin P., Camper A., Jones W., Gatel D., and Goldman J. C., (1996): Colonization and disinfection of biofilms hosting coliform-colonized carbon fines, *Applied Environmental Microbiology* 62, 4428–4432
- MSD priručnik dijagnostike i terapije (2014).
<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/infektologija/crijevni-protzozi/kriptosporidioza> Pristupljeno: 11.08.2020.
- Napolitano J.J., (1982): Isolation of amoebae from edible mushrooms, *Applied Environmental Microbiology* 44, 255–257
- Nature picture library (2018).

<https://www.naturepl.com/stock-photo-nature-image01595516.html> Pristupljeno: 04.08.2020.

Nawrot D., Mieczan T., (2014): Ciliates vs. another components of microbial loop in the psammolittoral zone: horizontal distribution, *Turk J Zool* 38, 168–178

Nawrot D., Mieczan T., (2012): Co-occurrence of psammonic ciliates and rotifers in poor eutrophic lake (Łęczna-Włodawa Lakeland), *Teka Kom Ochr Kszt Środ Przyr – OL PAN* 9, 125–133

Pernthaler J., (2005): Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications, *Nature Reviews Microbioly* 3, 537–46 i Corrigendum u *Nature Reviews Microbiology* 3, 739

Piotrowski J. S., Annis S. L., Longcore J. E., (2004): Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians, *Mycologia* 96, 9-15

Plutzer J. i Karanis P., (2016): Neglected waterborne parasitic protozoa and their detection in water, *Water Research* 101, 318-332

Ratsak C. H., Maarsen K. A., Kooijman S. A. L. M., (1996): Effects of protozoa on carbon mineralization in activated sludge, *Journal of Water Resistance* 30(1), 1–12

Rosado-García F. M., Guerrero-Flórez M., Karanis G. i sur., (2017): Water-borne protozoa parasites: The Latin American perspective, *Internatinal Journal of Hygiene and Environmental Health* 220(5), 783-798

Safe Drinking Water Foundation (2020).

<https://www.safewater.org/fact-sheets-1/2017/1/23/protozoan-parasites> Pristupljeno: 11.08.2020.

Sambanis, A., Fredrickson, A. G., (1988): Peristance of bacteria in the presence of viable, nonencysting, bacterivorous ciliates, *FEMS Microbiology Ecology* 16(2), 197–211

Sauvant M. P., Pepin D., Piccinni E., (1999): *Tetrahymena pyriformis*: a tool for toxicological studies, *Chemosphere* 38, 1631–1669

Schmeller D. S., Blooi M., Martel A., Garner T. W. J., Fisher M. C., Azemar F. i sur., (2014): Microscopic Aquatic Predators Strongly Affect Infection Dynamics of a Globally Emerged Pathogen, *Current Biology* 24, 176-180

Science Source images (2020).

<https://www.sciencesource.com/archive/Didinium-Ingesting-Paramecium-SS2526344.html>

Pristupljeno: 09.08.2020.

Sibille I., Sime-Ngando T., Mathieu L. i Block J. C., (1997): Protozoan Bacterivory and *Escherichia coli* Survival in Drinking Water Distribution Systems, *Applied and Environmental Microbiology* 64(1), 197-202

Sigona C., Bardi A., Modeo L. i sur., (2020): Role of bacterivorous organisms on fungal-based systems for natural tannin degradation, *Heliyon* 6, 1-12

Snelling W. J., McKenna J. P., Hack C. J., Moore J. E., Dooley J. S. G., (2006): An examination of the diversity of a novel *Campylobacter* reservoir, *Archives of Microbiology* 186, 31–40

Snelling W. J., McKenna J. P., Lecky D. M., Dooley J. S. G., (2005): Survival of *Campylobacter jejuni* in waterborne protozoa, *Applied Environmental Microbiology* 71, 5560–5571

Strom S. L., Loukos H., (1998): Selective feeding by protozoa: model and experimental behaviors and their consequences for population stability, *Journal Plankton Research* 20, 831–846

Swaffer B. A., Vial H. M., King B. J., Daly R., Frizenschaf J., Monis P.T., (2014): Investigating source water *Cryptosporidium* concentration, species and infectivity rates during rainfall-runoff in a multi-use catchment, *Water Research* 67, 310–320

Vaerewijck M. J. M., Baré J., Lambrecht E., Sabbe K. i Houf K., (2014): Interactions of foodborne pathogens with free-living Protozoa: potential consequences for food safety, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 924-938

- Vaerewijck M. J. M., Sabbe K., Baré J., Houf K., (2008): Microscopic and molecular studies of the diversity of free-living protozoa in meat-cutting plants, *Applied Environmental Microbiology* 74, 5741–5749
- Vaerewijck M. J. M., Sabbe K., Baré J., Houf K., (2011): Occurrence and diversity of free-living protozoa on butterhead lettuce, *International Journal of Food Microbiology* 147, 105–111
- Verity, P. G., (1988): Chemosensory behavior in marine planktonic ciliates, *Bulletin of Marine Science* 43, 772–782
- Verity P. G., (1991): Feeding in planktonic protozoans: evidence for non- random acquisition of Prey, *Journal Eukaryotic Microbiology* 38(1), 69–76
- Vidal Siqueira-Castro I. C., Greinert-Goulart J. A., Bonatti T. R., Yamashiro S. i Bueno Franco R. M., (2016): First report of predation of *Giardia* sp. cysts by ciliated protozoa and confirmation of predation of *Cryptosporidium* spp. oocysts by ciliate species, *Environmental Science and Pollution Research* 23(11), 11357-11362
- Voyles J., Rosenblum E. B. i Berger L., (2011): Interactions between *Batrachochytrium dendrobatidis* and its amphibian hosts: a review of pathogenesis and immunity, *Microbes and Infection* 13, 25-32
- Warren A., Patterson D. J., Dunthorn M., Clamp J. C. i sur., (2017): Beyond the „Code“: A Guide to the Description and Documentation of Biodiversity in Ciliated Protists (Alveolata, Ciliophora), *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 64, 539-554
- Woodhams D. C., Alford R. A., Briggs C. J., Johnson M., Rollins- Smith L. A., (2008): Life-history trade-offs influence disease in changing climates: strategies of an amphibian pathogen, *Ecology* 89, 1627-1639

<http://ciliateguide.myspecies.info/file-colorboxed/419> Pristupljeno: 11.08.2020.

7. SAŽETAK

Patogeni mikroorganizmi koji uključuju neke bakterije, parazitske praživotinje i gljivice predstavljaju veliki zdravstveni problem za organizme koje inficiraju. Trepetljikaši su velika skupina praživotinja koja uglavnom nastanjuje slatke vode, more i kapilarnu vodu tla, većinom su slobodnoživući i „pasu“ mikroorganizme među kojima su i neki patogeni. Zbog toga postoji mogućnost da se koriste kao alternativna metoda regulacije veličine patogenih populacija u prirodnim i umjetnim ekosustavima. Nedavno je dokazano da korištenje trepetljikaša u te svrhe može biti rizično jer ih neke patogene bakterije koriste kao rezervoare u kojima se razmnožavaju, preživljavaju nepovoljne uvjete i horizontalnim prijenosom primaju nove gene poput onih za otpornost na antibiotike što ih čini virulentnijima. To je jedan od razloga zašto je potrebno još istraživanja i promatranja ponašanja samih trepetljikaša, ali i njihove interakcije s patogenima jer se na taj način može stvoriti nova sigurna metoda za borbu protiv patogena mikroorganizma bez štetnih posljedica na okoliš i druge organizme.

8. SUMMARY

Pathogenic microorganisms which include some bacteria, parasitic protozoa and fungi are a big problem for organisms they infect. The ciliates are big group of mostly free-living organisms who generally inhabit in fresh waters, sea and soils and graze microorganisms including some pathogens. Thus, they can be used as alternative method to regulate size of pathogenic populations in natural and artificial environments. It was recently shown that exploitation of ciliates in that way could be hazardous because some pathogenic bacteria use them as reservoirs in which they can replicate, survive in unfavourable conditions and through horizontal transfer of genes gain new genes like those which carry information for antibiotic resistance and that can increase their virulence. That is one of the many reasons why further researches and examinations on behaviour of ciliates and their interactions with pathogens are necessary. In that way, a new and safe method without harmful consequences for environment and other organisms can be developed and used against pathogenic microorganisms.