

DRVO ŽIVOTA

Spužve roda *Clathrina* (Calcarea) iz sjevernog Jadrana

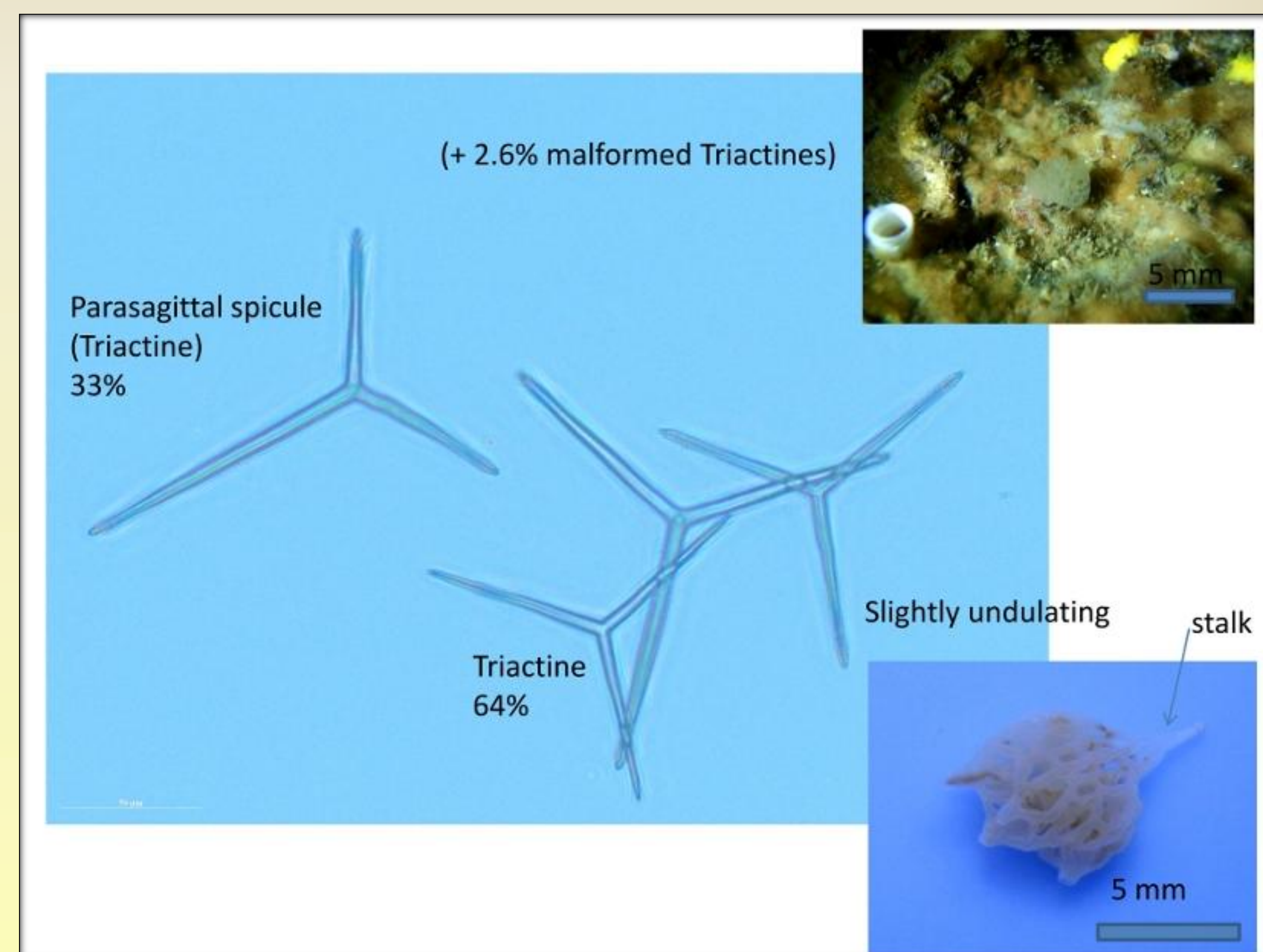
M. Imešek i B. Pleše

Zavod za molekularnu biologiju, Laboratorij za molekularnu genetiku

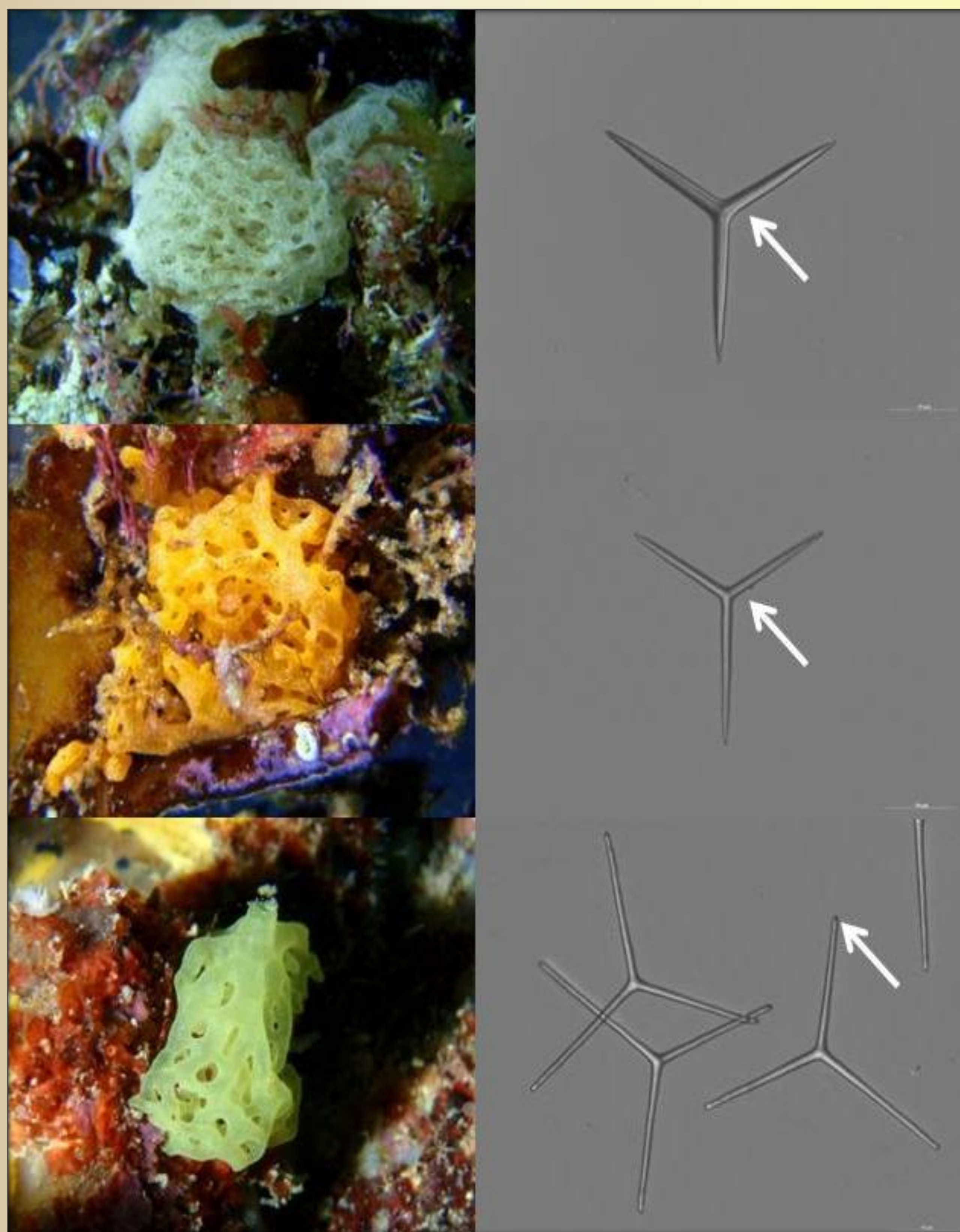


Fosilni ostaci pronađeni na Arapskom poluotoku, koji datiraju otprilike 635 milijuna godina, ukazuju na to da su spužve (Porifera) najstarije poznate životinje. Spužve, kao bazalna grupa u animalnoj filogeniji, postavile su osnovu za razvitak svih životinja. Razvijale su se zajedno s fizikalno-kemijskim promjenama u okolišu, a najveći procvat dogodio se u razdoblju kambrijske eksplozije. Ove životinje s jednostavnom morfologijom (nedostatak tkiva i organa) pokazale su nevjerojatnu kompleksnost genoma i veliki potencijal u proučavanju evolucije genoma svih Metazoa. Spužve u morskim ekosustavima sudjeluju u izgradnji koraljnih grebena, služe kao zaklon za mnoge rakove, kolutičavce i ličinke kukaca. Štoviše, spužve predstavljaju pravi mali zoološki vrt, živeći u simbiozi s brojnim bakterijama i drugim organizmima. Njihova komercijalna upotreba datira još iz antičkog doba, a danas su značajne za biotehnoška istraživanja (antibiotici, citostatici).

Razred Calcarea (Vapnenjače) obuhvaća sitne morske spužve radijalne simetrije čiji je skelet izgrađen od CaCO₃ spikula. Ove spužve su kozmopolitske vrste koje uglavnom žive u sjenvitim područjima i plićim vodama, iako ima i nalazišta na dubini od 4000 m. Postoji oko 400 opisanih vrsta. Rod *Clathrina* posebno je zahtjevan za determinaciju zbog nedostatka morfoloških karakteristika. Stoga su molekularno genetička istraživanja od izuzetnog značaja za rješavanje filogenetskih odnosa unutar roda. U ovom radu analizirale su se 4 jedinke roda *Clathrina* iz sjevernog Jadrana na osnovi morfoloških i molekularnih analiza koje su pokazale specifičnosti ovog roda u Jadranskom moru.



Slika 2. Prikaz i opis spikula vrste *Clathrina* sp. uz slike *in situ* te prikaz jedinke snimljene pod lupom



Slika 1. *In situ* fotografije različitih vrsta roda *Clathrina* različitih morfoloških karakteristika, s izoliranim spikulama

Sistematika Calcarea donedavno se bazirala isključivo na morfološkim karakteristikama. Tijekom vremena, istraživači su ih dijelili u razne skupine, bazirajući se na određenim sličnostima i razlikama u njihovom vanjskom izgledu i građi skeleta. Jedna od podjela, koja je i danas aktualna, obuhvaća dva podrazreda: Calcinea i Calcaronea.

Zbog ograničenog broja karakteristika, postojeća klasifikacija je vrlo spekulativna. Rod *Clathrina* definiran je gotovo isključivo negativnim karakteristikama. Najjednostavniji askonoidni tip građe, jednostavan skelet koji se sastoji isključivo od diaktinskih, triaktinskih, ponekad tetraktinskih spikula te nedostatak brojnih morfoloških karakteristika koje se koriste u sistematici, uvelike otežava determinaciju vrsta. Mnoge karakteristike bitne za determinaciju nisu konzistentne čak ni kod svih jedinki iste vrste pa je moguće da jedinke unutar iste kolonije imaju potpuno drugačije vanjske karakteristike.

S obzirom da morfološke analize ne daju dovoljno informacija, unazad nekoliko godina počelo se raditi na molekularnim karakteristikama pojedinih vrsta. Uvođenjem molekularnih metoda, otkrilo se kako su mnoge vrste koje su svrstane zajedno na temelju morfoloških značajki, zapravo različite. Nasuprot tomu, mnoge jedinke koje su morfološki različite pripadaju istoj vrsti, ali su morfološki prilagođene i promijenjene ovisno o staništu i uvjetima u kojima se nalaze.

| | | | | | | | | | | |
|-----|-------|-----------------|--------------|------------------|----------|----------|-----------------|-----------|--------------------|-------|
| CLR | --- | CCGTTCAAAC | ACTTC | ATGATTCACTGAATTC | GCAMT | CACACTAC | ATATCGCGTTTTGCT | GGTTTCTT | CTMCGATTCACGAGCCAA | : 88 |
| CLW | --- | CGTTCAAAC | ACTTC | ATGATTCACTGAATTC | GCAMT | CACACTAC | ATATCGCGTTTTGCT | GGTTTCTT | CTMCGATTCACGAGCCAA | : 87 |
| CL2 | --- | CGTTCAAAC | ACTTC | ATGATTCACTGAATTC | GCAMT | CACACTAC | ATATCGCGTTTTGCT | GGTTTCTT | CTMCGATTCACGAGCCAA | : 90 |
| CLM | --- | CGTTCAAAC | ACTTC | ATGATTCACTGAATTC | GCAMT | CACACTAC | ATATCGCGTTTTGCT | GGTTTCTT | CTMCGATTCACGAGCCAA | : 91 |
| CLR | GAGAT | CCACCCTTGAAGCTT | GTCTT | ATCAAGATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | : 180 |
| CLW | GAGAT | CCACCCTTGAAGCTT | GTCTT | ATCAAGATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | : 176 |
| CL2 | GAGAT | CCACCCTTGAAGCTT | GTCTT | ATCAAGATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | : 179 |
| CLM | GAGAT | CCACCCTTGAAGCTT | GTCTT | ATCAAGATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | ATCAAG | : 182 |
| CLR | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | : 253 |
| CLW | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | : 253 |
| CL2 | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | : 269 |
| CLM | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | ATGATTA | ATG | : 255 |
| CLR | CGT | CGTGGGCTC | CGGAAAGGAGCC | CGATTTAA | CGGCTTGC | TGGGCT | AAACCCCA | AAAGGAGAA | AAAGGAGAA | : 337 |
| CLW | CGT | CGTGGGCTC | CGGAAAGGAGCC | CGATTTAA | CGGCTTGC | TGGGCT | AAACCCCA | AAAGGAGAA | AAAGGAGAA | : 308 |
| CL2 | CGT | CGTGGGCTC | CGGAAAGGAGCC | CGATTTAA | CGGCTTGC | TGGGCT | AAACCCCA | AAAGGAGAA | AAAGGAGAA | : 354 |
| CLM | CGT | CGTGGGCTC | CGGAAAGGAGCC | CGATTTAA | CGGCTTGC | TGGGCT | AAACCCCA | AAAGGAGAA | AAAGGAGAA | : 326 |
| CLR | GAC | CCGATTCACAGTCTC | CAAGTATT | GAGATTC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | : 428 |
| CLW | GAC | CCGATTCACAGTCTC | CAAGTATT | GAGATTC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | : 397 |
| CL2 | GAC | CCGATTCACAGTCTC | CAAGTATT | GAGATTC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | : 444 |
| CLM | GAC | CCGATTCACAGTCTC | CAAGTATT | GAGATTC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | GATATC | : 415 |

Slika 3. Usporedba razlika u sekvenci ITS rDNA markera iz 4 vrste roda *Clathrina*

Ovo istraživanje obuhvaća morfološku i molekularnu analizu 4 jedinke roda *Clathrina* iz sjevernog Jadrana. Jedinke su sakupljene na dva različita staništa, livada alge cistozire i ulaza u stjenovite špilje.

Morfološka analiza bazirala se na već postojećim metodama proučavanja vanjskog izgleda i građi skeleta. Molekularne analize obuhvatile su usporedbu sekvenci klasičnih genetičkih markera, ITS1-5.8S-ITS2, 18S and 28S rDNA.

Provedene analize dokazale su 4 različita morfotipa. Značajne razlike u sekvencama analiziranih markera, kao i građi skeleta, pokazuju da se radi o 4 različite vrste *Clathrina*. U tijeku je usporedba dobivenih rezultata s dosada poznatim vrstama, kako bi se točno odredilo kojoj vrsti pripada pojedina analizirana jedinka te postoje li među njima vrste koje do sada nisu opisane.