

MARTA SAŁEK<sup>1</sup>, MAŁGORZATA CHWALIŃSKA<sup>2</sup>, ANNA KARNKOWSKA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ORCID 0000-0001-5570-3123  
e-mail: mj.salek@uw.edu.pl

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-5065-1608  
e-mail: m.chwalinska@uw.edu.pl

<sup>3</sup> ORCID 0000-0003-3709-7873  
e-mail: a.karnkowska@uw.edu.pl

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Biologii Ewolucyjnej, ul. Żwirki i Wigury 101,  
02-089, Warszawa  
University of Warsaw, Faculty of Biology, Institute of Evolutionary Biology, Żwirki i Wigury 101,  
02-089, Warszawa, Poland

## Razem różniej – symbiozy w świecie mikroorganizmów

### United we stand – symbiosis in the microbial world

[https://doi.org/10.36921/kos.2024\\_3031](https://doi.org/10.36921/kos.2024_3031)

#### Abstrakt

Relacje symbiotyczne jednokomórkowych eukariontów (protistów) odegrały kluczową rolę w powstaniu i różnicowaniu organizmów eukariotycznych. Mają też duże znaczenie dla funkcjonowania ekosystemów, a mimo to pozostają nadal dość słabo zbadane. Mikroorganizmy eukariotyczne wchodzą w relacje symbiotyczne zarówno jako gospodarze, jak i symbionty. Mogą to być relacje od pasożytniczych po symbiozy mutualistyczne, czyli układy korzystne dla obydwu partnerów. W symbiozach mutualistycznych może dochodzić do wymiany substancji odżywczych, jak np. w interakcji jednokomórkowych glonów z koralowcami, czy licznych fotosymbiozach, w których gospodarzem jest jednokomórkowy protista a symbiontem fotosyntetyczny organizm eukariotyczny lub cyjanobakteria (sinica). Z kolei pasożytnicze interakcje protistów mogą być szkodliwe albo nawet zabójcze dla ich wielo- i jednokomórkowych gospodarzy. Aby lepiej zrozumieć zespoły

mikroorganizmów i ich funkcjonowanie, istotne jest poznanie natury tych powszechnych symbiotycznych interakcji. Przybliżamy zatem różnorodność i znaczenie symbioz u protistów oraz rozwijające się kierunki badań w tej fascynującej dziedzinie.

Słowa kluczowe: interakcje, symbioza, protisty, mikroorganizmy, techniki mikroskopowe, sekwencjonowanie wysokoprzepustowe

### Abstract

Symbioses of unicellular eukaryotes play a crucial role in shaping ecosystems and driving evolutionary processes, however, they are often overlooked. Microbial eukaryotes enter into a diverse array of symbiotic relationships ranging from mutualism to parasitism. They can be both symbionts and hosts for other microbial symbionts. Mutualistic associations can enable both partners to thrive through nutrient exchange, e.g. symbioses of corals and unicellular algae or ample photosymbioses where the symbiont is a photosynthetic eukaryote or cyanobacterium. Conversely, parasitic interactions of protists can be harmful to multicellular and unicellular organisms. To better understand microbial communities and their functioning, it is important to understand the nature of these symbiotic relationships. Here we highlight the importance of symbioses in protists and the need for further research in this fascinating field.

Key words: interactions, symbiosis, protists, microorganisms, microscopy, high-throughput sequencing

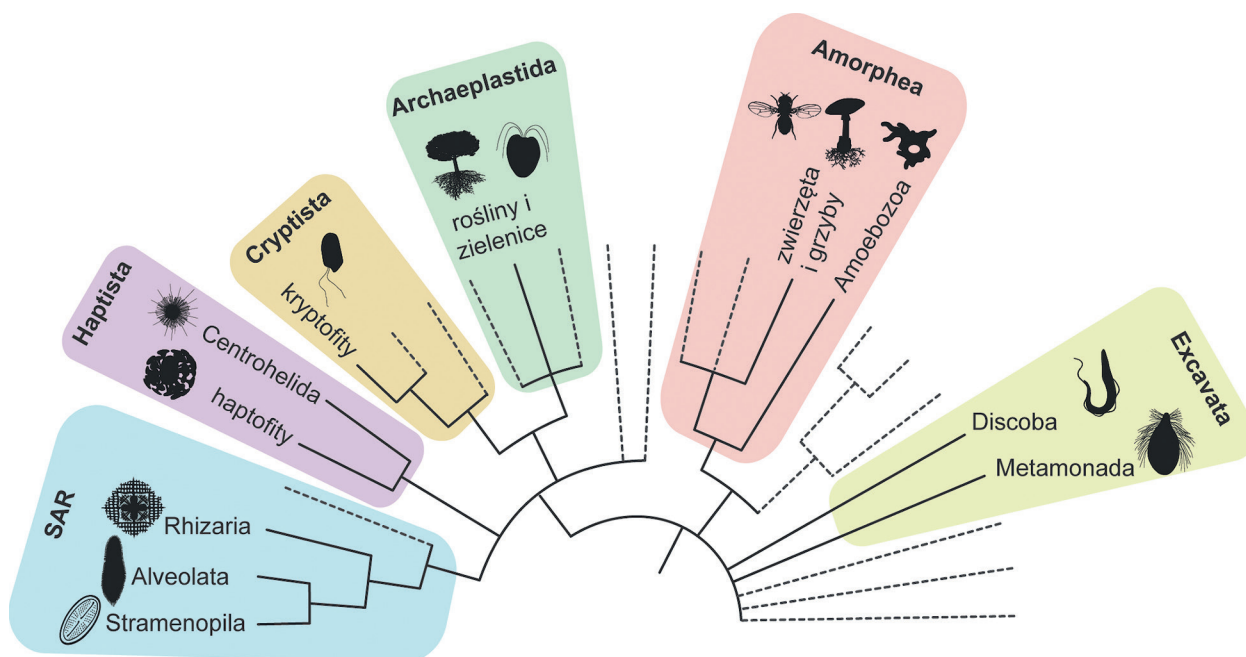
### CO TO SĄ PROTISTY?

Protisty to organizmy eukariotyczne, które nie są ani zwierzętami, ani roślinami, ani grzybami. Nie jest to definicja bardzo precyzyjna, ale szeroko przyjęta ze względu na swoją użyteczność. Brak bardziej konkretnej definicji wynika przede wszystkim z ogromnego zróżnicowania tej grupy organizmów, co uniemożliwia zidentyfikowanie cech wspólnych dla wszystkich przedstawicieli (poza tym, że wszystkie są organizmami eukariotycznymi).

Odkąd Antoni van Leeuwenhoek skonstruował pierwszy mikroskop i zaobserwował jednokomórkowe organizmy eukariotyczne, stało się jasne, że ich różnorodność jest ogromna. Organizmy te, choć często niewidoczne gołym okiem, pod mikroskopem znacznie różniły się między sobą pod względem morfologii. Przez długi czas dzielono je ze względu na ich sposób odżywiania, na bardziej podobne do roślin z chloroplastami – często nazywane glonami (choć glony oczywiście nie muszą być jednokomórkowe) i na odżywiający się heterotroficznie, a zatem zwierzęcopodobne i zwane pierwotniakami. Inny sposób podziału uwzględniał sposób poruszania się, tu wyróżniano między

innymi wiciowce i ameby, ze względu na obecność wici lub nibynózek. Z czasem, dzięki badaniom pokrewieństwa opartym na informacji genetycznej, a także bardziej zaawansowanym technikom mikroskopii, stało się jasne, że takie podziały są sztuczne i nie mają uzasadnienia w relacjach pokrewieństwa.

Relacje pokrewieństwa protistów badamy obecnie głównie w oparciu o dane molekularne, czyli sekwencje DNA wybranych genów lub całych genomów. Rekonstrukcja drzewa filogenetycznego wszystkich organizmów eukariotycznych wskazuje na ogromną różnorodność protistów, które stanowią większość gałęzi (Ryc. 1). Z tej różnorodności wyewoluowały organizmy wielokomórkowe – rośliny, zwierzęta i grzyby, ale stanowią one tylko niewielki wycinek całego drzewa eukariontów (Burki i współaut. 2020). Resztę tej różnorodności tworzą lepiej lub gorzej znane szerokiemu odbiorcy grupy protistów, które zostały wydzielone na podstawie zarówno ich pokrewieństwa, jak i cech ultrastrukturalnych i morfologicznych. Najwyższa kategoria w tym podziale to supergrupa: taką supergrupę stanowią np. Archaeplastida, która łączy w sobie rośliny wyższe, zielenice, krasnorosty i mniej znane glaukocystofity.



**Ryc. 1.** Schematyczne drzewo eukariotów (Burki i współaut. 2020), wyróżnione kolorem zostały supergrupy, w których opisano interakcje symbiotyczne. Sylwetki reprezentują przykładowe organizmy z wymienionych z nazwy grup.

Ogromna różnorodność genetyczna protistów przekłada się również na ich inne cechy. Protisty mogą się różnić systemami organizacji DNA i regulacji transkrypcji, sposobami poruszania się i odżywiania, osłonami komórkowymi czy też kształtem i liczbą organelli komórkowych. Protisty zasiedlają też różnorodne środowiska i wchodzą w liczne interakcje zarówno z organizmami wielokomórkowymi jak i jednokomórkowymi, w tym innymi protistami, ale również organizmami prokariotycznymi (bakteriami i archeonami).

Dzięki wspomnianym już wcześniej badaniom różnorodności z wykorzystaniem metod molekularnych i odkryciu ogromnej różnorodności mikroorganizmów eukariotycznych, znacznie zwiększył się nasz dostęp do informacji o tych organizmach, a co za tym idzie również o ich interakcjach. Nasza wiedza o istniejących interakcjach mikroorganizmów eukariotycznych jest jednak wciąż bardzo ograniczona i rozproszona. Badania literaturowe, zebrane w bazie Protist Interaction DAtabase (PIDA) umożliwiły podsumowanie dotychczas opisanych interakcji (głównie na podstawie obserwacji) i wykazanie, że najczęściej

opisywaną interakcją jest drapieżnictwo – 39%, symbioza (rozumiana jako symbioza mutualistyczna) – 29% i pasożytnictwo – 18%. Dane literaturowe są jednak bardzo skąpe, zarówno jeżeli chodzi o różnorodność przebadanych grup organizmów, jak i ogólną liczbę badań. Potencjalny przełom mogą stanowić badania z wykorzystaniem sekwencjonowania wysokopręstowego i modelowania interakcji na podstawie tak uzyskanych danych w postaci tzw. sieci interakcji (Bjorbækmo i współaut. 2020).

#### KONTINUUM INTERAKCJI SYMBIOTYCZNYCH

Organizmy żyjące w danym środowisku wchodzą ze sobą w złożone interakcje co jest podstawą funkcjonowania różnorodnych ekosystemów. Interakcje te w ekologii często opisywane są na podstawie wpływu, jaki wywierają na partnerów. W związku z tym rozróżniamy interakcje antagonistyczne, które wywierają negatywny wpływ chociaż na jednego z partnerów i nieantagonistyczne, które nie przynoszą szkody (a czasem są nawet korzystne) dla żadnego z partnerów. Takie interakcje są dobrze znane

ze świata roślin czy zwierząt, ale wiemy, że są to uniwersalne oddziaływania międzygatunkowe, które także możemy spotkać między organizmami jednokomórkowymi i wielokomórkowymi, jak również między mikroorganizmami. Choć interakcje między mikroorganizmami nie wydają się tak spektakularnie jak kwiaty i ich zapylacze, lew polujący na antylopę, czy grzyby mykoryzowe i rośliny, to interakcje mikroorganizmów podtrzymują funkcjonowanie wielu ekosystemów na Ziemi. U podstawy ekosystemów wodnych są jednokomórkowi producenci pierwotni, a w glebie to mikroorganizmy rozkładają większość materii organicznej.

Jedną z najbardziej fascynujących interakcji, o kluczowych konsekwencjach dla ewolucji życia na Ziemi i funkcjonowania ekosystemów, jest symbioza. Według definicji sformułowanej przez Heinricha Antona de Bary symbioza to ścisła i długoterminowa interakcja między dwoma organizmami różnych gatunków. W tej niezwykle obszernej definicji mieści się zatem całe spektrum interakcji, od pasożytnictwa przez komensalizm aż do symbioz mutualistycznych, często nieprecyzyjnie nazywanych po prostu symbiozą. Tak rozumiane symbiozy mogą być zatem interakcją antagonistyczną lub nieantagonistyczną, a wyróżnia je to, że są interakcją ścisłą i długotrwałą. Już sama definicja symbiozy jest bardzo szeroka i obejmuje wiele różnorodnych interakcji, a dodatkowo jednoznaczna interpretacja danej relacji komplikuje często brak dokładnych danych o jej naturze. Szczególnie u mikroorganizmów trudno wskazać na bezpośredni efekt interakcji dla gospodarza i symbionta bez dogłębnych badań. Jednocześnie symbiozy mogą zmieniać swoją naturę w czasie, w szczególności zależnie od warunków środowiska. Niektóre interakcje jedynie w konkretnych warunkach będą miały jednoznacznie pozytywny lub negatywny wpływ na partnerów, co utrudnia scharakteryzowanie i opisanie tych dynamicznych relacji. W rzeczywistości mówimy zatem o kontinuum interakcji, co zostało opisane w licznych modelach symbioz bakteryjnych z organizmami wielokomórkowymi (Drew i współaut. 2021). Nie ma jednak powodów aby sądzić, że sprawy mają

się inaczej w interakcjach z organizmami jednokomórkowymi, czego znakomicie dowodzi przykład bakteryjnego symbionta *Parachlamydia acanthamoebae* i gospodarza ameby (Amoebozoa, Amorphea) z rodzaju *Acanthamoeba*. W układzie tym zaobserwowano przesunięcie endosymbionta w stronę pasożytnictwa, połączone z wyraźnymi zmianami w ekspresji genów kodujących białka niezbędne do manipulacji komórek gospodarza, takich jak system sekrecji typu III (Herrera i współaut. 2020).

## SYMBIOZY MIKROORGANIZMÓW EUKARIOTYCZNYCH

Symbiozy mikroorganizmów eukariotycznych z innymi mikroorganizmami są znane od dawna i opisywane najpierw na podstawie obserwacji w mikroskopie świetlnym, a później również elektronowym, a ostatnio coraz częściej z wykorzystaniem danych molekularnych. Przykłady takich symbioz są rozproszone po drzewie eukariontów i dotyczą większości znanych grup protistów (Husnik i współaut. 2021), co sugeruje, że jest to zjawisko powszechne. Jednocześnie nasza wiedza o symbiozach w środowiskach naturalnych jak i naturze konkretnych interakcji jest bardzo ograniczona. Dopiero w ostatnich latach dzięki postępowi technik sekwencjonowania a te także obrazowania komórek, nasze zrozumienie tych złożonych interakcji i ich skali znacznie się poszerzyło, a analiza symbioz w świecie mikroorganizmów stała się prężnie rozwijającym się kierunkiem badań.

## MOLEKULARNE METODY BADANIA SYMBIOZ

Metody molekularne czyli przede wszystkim sekwencjonowanie genomów i transkryptomów, umożliwiają dokładniejszą analizę interakcji symbiotycznych. Do sekwencjonowania wykorzystuje się wyizolowane DNA lub RNA, dlatego zwykle badany układ powinien być nie tylko wyizolowany ze środowiska, ale również dostępny jako hodowla (duża liczba komórek przekłada się na lepszą jakość wyizolowanego DNA i RNA, a tym samym na otrzymanie lepszej

jakości genomów i porównań profili transkrypcyjnych). Zakładanie hodowli jest trudne, czasochłonne i jedynie sporadycznie zakończone sukcesem, dlatego hodowle dostępne są tylko dla niewielkiej części protistów. W przypadku symbioz próbuje się otrzymać hodowle holobiontów czyli konsorcjów złożonych z gospodarza i symbiontów (Balzano i współaut. 2015), jak również osobnych hodowli gospodarza i symbiontów. Czasami jednak partnerzy są za bardzo od siebie zależni, by możliwe było ich rozdzielenie. W układach mniej ścisłych, by pozbyć się autotroficznego symbionta najczęściej wystarczy trzymanie w ciemności, a w przypadku bakterii można stosować antybiotyki. Aby wyizolować endosymbionty najczęściej mechanicznie uszkodza się komórki gospodarza (Decelle i współaut. 2015; Not i współaut. 2016). Utrzymanie stabilnych hodowli umożliwia przeprowadzanie szeregu eksperymentów i testowanie różnych hipotez. Pozbawionego symbiontów gospodarza można „infekować” różnymi organizmami, by sprawdzić jego specyficzność co do wyboru endosymbionta. Podobnie sprawdza się elastyczność symbionta we wchodzeniu w relacje z różnymi gospodarzami.

Trudności w otrzymaniu hodowli mikroorganizmów były zawsze czynnikiem ograniczającym badania. Niedawny rozwój technik pracy na pojedynczych komórkach umożliwił jednak szczegółowe badania mikroorganizmów pobranych bezpośrednio ze środowiska. Komórki pobiera się ręcznie z użyciem mikromanipulatora lub automatycznie z wykorzystaniem cytometrii przepływowej (FACS, ang. Fluorescence-Activated Cell Sorting). Z wyizolowanych pojedynczych komórek następnie izoluje się DNA, ale ilość otrzymanego materiału jest niewielka i w kolejnym kroku namnaża się cały wyizolowany materiał genetyczny korzystając z krótkich starterów o losowej sekwencji i polimerazy DNA. Zwiększona ilość materiału genetycznego umożliwia standardową reakcję PCR powielającą gen markerowy (np. geny rRNA) i identyfikację partnerów symbiotycznych, jak również sekwencjonowanie i zrekonstruowanie genomów gospodarza i symbionta, co pozwala na poznanie ścisłości relacji i zmian, które

zaszły w ich genomach w porównaniu z wolno żyjącymi gatunkami.

Z pojedynczych komórek możemy wyizolować również RNA, dzięki czemu jesteśmy w stanie zajrzeć jeszcze głębiej w relację pomiędzy partnerami na poziomie ekspresji genów. Szybkie wyciągnięcie komórek ze środowiska i zamrożenie w ciekłym azocie umożliwia uchwycenie stanu transkrypcji występującego bezpośrednio w przyrodzie, co stanowi przewagę nad analizą transkryptomów z organizmów w hodowli (Ku i Sebé-Pedrós 2019).

#### METODY MIKROSKOPOWE I INNE TECHNIKI OBRAZOWANIA

Techniki molekularne są nieocenionym źródłem informacji o potencjale genetycznym i zależnościach metabolicznych zachodzących pomiędzy organizmami, jednak jedynie techniki mikroskopowe pozwalają potwierdzić obecność symbionta i jego lokalizację w komórkach gospodarza. Większości symbiontów bakteryjnych nie da się w łatwy sposób zaobserwować pod zwykłym mikroskopem świetlnym, dlatego stosuje się go głównie do identyfikacji organizmów posiadających barwne symbionty (Ryc. 2a i 2d) i do samego procesu wyciągania pojedynczych komórek (po nałożeniu kropli próbki na szkiełko podstawowe, mikropipetą wyciąga się pojedyncze komórki protistów i przekłada do małych probówek, gdzie oczekują na dalsze analizy). Podobnie wygląda sytuacja z mikroskopią epifluorescencyjną, która pozwala na obserwację autofluorescencji m.in. chlorofilu i fikobilin obecnych u organizmów fotosyntetyzujących (Decelle i współaut. 2015).

Jedną z najpowszechniej stosowanych technik wizualizacji symbiontów jest metoda FISH (ang. Fluorescence In Situ Hybridization), czyli fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (Ryc. 2c). Technika ta polega na stosowaniu specyficznych fragmentów DNA połączonych z barwnikiem fluorescencyjnym, tak zwanych sond. Po odpowiednim utrwaleniu komórki sonda jest wprowadzana do jej środka, gdzie łączy się komplementarnie z DNA organizmu, dla którego została zaprojektowana. Następnie po

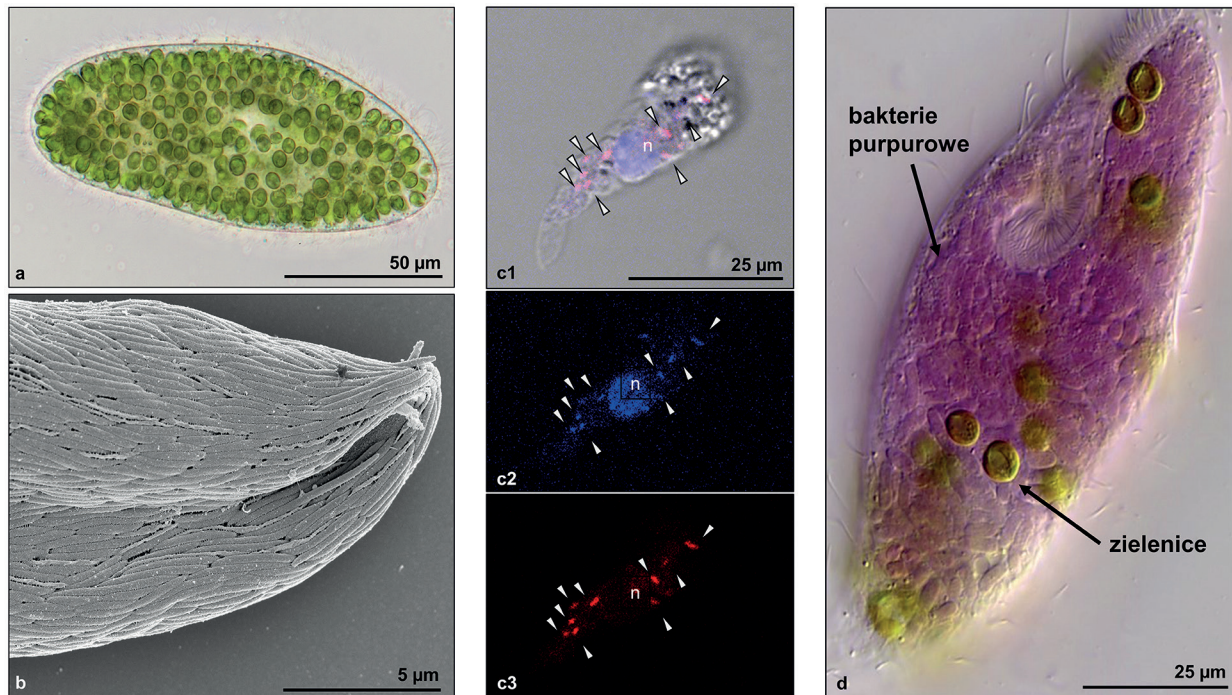


wzbudzeniu odpowiednią długością światła, barwnik fluorescencyjny zaczyna świecić tylko, jeśli sonda „znalazła” komplementarny fragment DNA. Możliwe jest stosowanie kilku sond na raz, co pozwala na potwierdzenie obecności i lokalizacji wielu symbiontów w tej samej komórce.

Jeszcze dokładniejszej informacji o lokalizacji symbionta w komórce gospodarza dostarcza mikroskopia elektronowa, pozwalająca na o wiele większe powiększenia. Wyróżnia się dwa podstawowe rodzaje: mikroskopia elektronowa skaningowa SEM i transmisyjna TEM. Mikroskopia skaningowa analizuje powierzchnię obrazowanej komórki i pozwala zidentyfikować obecność ektosymbiontów (Ryc. 2b), natomiast mikroskopia transmisyjna, która poprzedzona jest procesem cięcia preparatu na

cienkie plasterki (zazwyczaj niecałe 100 nm), umożliwia zajrzenie do wnętrza komórki i zidentyfikowanie endosymbiontów i ich dokładnej lokalizacji. Mikroskopia FIB-SEM łączy ze sobą mikroskopię skaningową i transmisyjną – po wizualizacji powierzchni komórki za pomocą SEM wycina się z niej cienkie plasterki z konkretnych, interesujących fragmentów, do dalszych obserwacji TEM. Technika ta umożliwia obrazowanie organelli w 3D i jest używana do pokazania zmian morfologicznych w komórce symbionta, takich jak układ i budowa chloroplastów (Uwizeye i współaut. 2021).

W celu poznania zależności metabolicznych pomiędzy organizmami w układzie symbiotycznym stosuje się technikę nano-SIMS (ang. nano secondary ion mass spectrometry), czyli



**Ryc. 2.** Zdjęcia mikroskopowe obrazujące przykładowe relacje symbiotyczne w świecie protistów; a – komórka orzęska *Paramecium bursaria* (Alveolata, SAR) z licznymi komórkami endosymbiotycznej zielenicy *Chlorella variabilis* (Archaeplastida) w świetle przechodzącym; b – zdjęcie z mikroskopu skaningowego SEM pokazujące *Calkinsia aureus* (Discoba, Excavata) z ektosymbiotycznymi, wydłużonymi bakteriami ściśle przykrywającymi całą komórkę, dzięki uprzejmości dr. Na-ojiego Yubuki; c – *Eutreptiella* sp. (Discoba, Excavata) z endosymbiotyczną bakterią *Candidatus Grellia alia* sp.; c1 – nałożone zdjęcie komórki w świetle przechodzącym z danymi fluorescencyjnymi; c2 – barwienie DAPI (pokazuje całe DNA w komórce, bakteryjne endosymbionta i jądro gospodarza); c3 – znakowanie sondą FISH specyficzną dla symbiotycznej bakterii; strzałkami pokazano te same bakterie na różnych zdjęciach tej samej komórki gospodarza; n – jądro komórkowe; d – komórka orzęska *Pseudoblepharisma tennue* z endosymbiotycznymi bakteriami purpurowymi i zielenicami *Chlorella* sp., dzięki uprzejmości prof. Sebastiana Hessa.

spektrometrię mas jonów wtórnych. Technika ta pozwala na rozróżnienie izotopów różnych pierwiastków, jak węgiel, czy azot. Zatem dodając związki zawierające takie izotopy do pożywki jesteśmy w stanie prześledzić przepływ metabolitów w holobioncie (Uwizeye i współaut. 2021).

## PROTISTY JAKO SYMBIONTY

Protisty wchodzą w symbiozy z innymi organizmami zarówno jako symbiont, jak i gospodarz danej relacji. Te, w których to protist jest symbiontem, przebadane są dość dobrze, gdyż w wielu przypadkach dotyczą w sposób pośredni lub bezpośredni człowieka. Wyjątkowo dokładnie zbadanymi symbiozami są te, w których protisty są patogenami ludzkimi. Prawdopodobnie najbardziej znanym przykładem jest *Plasmodium falciparum* z grupy Apicomplexa (Alveolata, SAR) – protist wywołujący malarię. Innym znanym patogenem z tej samej grupy jest *Toxoplasma gondii* powodująca toksoplazmozę. Patogenicznymi protistami są też ameby (Amoebozoa, Amorphea), jak *Entamoeba histolytica* powodująca czerwonkę pełzakową. Poza pasożytnictwem, protisty wchodzą też w symbiozy mutualistyczne ze swoimi wielokomórkowymi gospodarzami. Wymienić tu można przede wszystkim bruzdnice (Alveolata, SAR) z rodzaju *Symbiodinium*, będące fotosyntetyzującymi endosymbiontami, nie tylko koralowców, ale też ukwiałów, ślimaków nagooskrzelnych, meduz i przydaczni olbrzymich (Gordon i Leggat 2010). Podręcznikowym przykładem ścisłej symbiozy mutualistycznej z protistami są też porosty, gdzie w związku z grzybem żyją między innymi jednokomórkowe zielenice (Archaeplastida) czy różnowiciowce (Stramenopila, SAR). Symbiozy z protistami nie muszą się jednak opierać na fotosyntezie: znakomitym przykładem są termity (Gile 2024), gdzie ścisła relacja między tymi owadami a różnymi protistami z grupy Metamonada (Excavata) trwa już od okresu jurajskiego. Przykład ten (dokładnie omówiony później) jest o tyle ciekawy, że układ symbiotyczny jest złożony: termity są gospodarzem dla protistów, które z kolei są gospodarzami dla bakterii.

## PROTISTY JAKO GOSPODARZE

O wiele mniej przebadane są symbiozy, w których to protisty są gospodarzami. Dopiero od niedawna wiadomo, że w zasadzie we wszystkich odgałęzieniach drzewa filogenetycznego protistów znajdziemy przykłady symbioz. Grupy te różnią się jednak między sobą – nie w każdej z nich przypadki symbioz notowane są tak samo często. Na tym etapie badań nie jesteśmy jeszcze w stanie stwierdzić, czy ta nierówność wynika z faktycznego stanu rzeczy, czy badania są wybiórcze. Pewne grupy protistów są bardziej zbadane niż inne ze względu na łatwość pobierania próbek czy możliwość ich hodowli, np. orzęski mają duże komórki, które są łatwe do badania (ale też duża komórka może pomieścić więcej symbiontów). Niezależnie od przyczyn, najwięcej relacji symbiotycznych obserwuje się u orzęsków, ameb i protistów związanych z termitami (Husnik i współaut. 2021). Mało jest jednak danych dotyczących niewielkich heterotroficznych wiciowców pełniących ważną rolę w sieciach troficznych.

## KTO MOŻE BYĆ ENDOSYMBIONTEM PROTISTÓW?

Które mikroorganizmy mogą wchodzić w relacje symbiotyczne z protistami? Jak już wspomniano wcześniej, wszystkie kombinacje są możliwe: symbiontami mogą być zarówno prokaryoty (zarówno bakterie jak i archeony) jak i inne protisty. Z prokaryotów najczęstszymi symbiontami są bakterie. Wśród nich, tak jak wśród protistów, można wyróżnić grupy wchodzące w symbiozy o wiele częściej niż inne: przede wszystkim są to Alfabroteobakterie (głównie Rickettsiales i Holosporales), ale Bacteroidetes, Chlamydiales i Cyanobacteria są również częste. Wiele z grup bakterii przystosowało się do symbiotycznego trybu życia i nie są spotykane jako wolnożyjące – możemy je nazwać obligatoryjnymi endosymbiontami. Pojawiają się jako endosymbionty u różnych protistów i nie są wybiórcze względem gospodarzy (Pillonel i współaut. 2018). Ciekawą grupą są wspomniane już Rickettsiales, które do

niedawna znane były tylko jako bakterie patogene, powodujące u ludzi takie choroby jak gorączka plamista czy tyfus. Okazuje się jednak, że wszystkie adaptacje tych bakterii do życia jako patogeny człowieka wyewoluowały wcześniej, właśnie u gospodarzy – protistów. Również bakterie z pozostałych grup wchodzących w endosymbiozy z protistami bywają patogenami ludzkimi (np. *Chlamydia* czy *Legionella*). Bakterie z grupy Rickettsiales spotkać można m.in. u *Eutreptiella* (Ryc. 2c; Discoba, Excavata) (Hollender i współaut. 2024), czy u *Viridiraptor* (Rhizaria, SAR) (Hess 2017), a bakterie z rodzaju *Legionella* i *Chlamydia* są endosymbiontami ameb (Amoebozoa, Amorphea) (Maita i współaut. 2018). Poza symbiontami obligatoryjnymi, spotkać też można bakterie wchodzące w symbiozy fakultatywne z protistami. Dobrym tego przykładem są bakterie z grupy Holosporales i gospodarz *Diplonema* (Discoba, Excavata) – protist wymienia różne endosymbionty bakteryjne z tej grupy (Tashyreva i współaut. 2018). Nietypowym przypadkiem jest natomiast relacja między orzęskiem *Euplotes* (Alveolata, SAR) a bakteriami *Polynucleobacter necessarius* – bardzo blisko spokrewnione ze sobą szczepy są albo obligatoryjnymi, albo fakultatywnymi symbiontami (Boscaro i współaut. 2013).

Innymi prokariotami wchodzącymi w interakcje z protistami są archeony. Takie symbiozy spotyka się jednak znacznie rzadziej niż bakteryjne – znane przykłady pochodzą przede wszystkim ze stref beztlenowych w wodach słodkich i morzach. Wszystkie do tej pory opisane przypadki symbiozy protistów z archeonami dotyczą metanogenów (Lind i współaut. 2018). Najwięcej przypadków takich endosymbioz opisano u orzęsków, np. u *Legendrea* (Pomahač i współaut. 2023).

Poza prokariotami, symbiontami mogą być też inne protisty. Przykładów takich relacji jest wiele (dokładniej opisane są w dalszej części artykułu), jednak najlepiej poznane są endosymbiozy z fotosyntetyzującymi protistami. Symbiontami mogą być glony z różnych grup: głównie bruzdnice, ale też haptofity czy zielenice. Gospodarzami w tej relacji muszą być

organizmy o dość dużych komórkach, żeby pomieścić eukariotycznego endosymbionta (Decelle, Colin, i Foster 2015). Jednym z przykładów symbioz niefotosyntetycznych jest morski wiciowiec z grupy MAST-3 (MARine STRamenopile, SAR) pasożytujący na okrzemkach (Stramenopila, SAR) (Gómez i współaut. 2011). Istnieje również cała grupa bruzdnic z grupy Syndiniales, będąca pasożytami m.in. orzęsków, innych bruzdnic, czy radiolari (Nagarkar i Palenik 2023). Nie tylko pasożyty bywają heterotroficznymi eukariotycznymi symbiontami: znany jest przypadek ameby *Paramoeba* i kinetoplastida *Perkinsela* (Discoba, Excavata) (Tanifuji i współaut. 2017).

Układy gospodarzy i ich symbiontów mogą być też bardziej skomplikowane. Zdarzają się przypadki, w których w jednym organizmie żyją i eukariotyczny i prokariotyczny endosymbiont. Orzęsek *Pseudoblepharisma tenue* (Ryc. 2d) jest gospodarzem dwóch różnych fotosyntetyzujących endosymbiontów: eukarionta *Chlorella* (zielenice, Archaeplastida) i bakterii purpurowej (Muñoz-Gómez i współaut. 2021). W komórkach orzęska *Legendrea* występują i bakterie i archeony (Pomahač i współaut. 2023), jest też wiele przykładów występowania co najmniej dwóch różnych bakteryjnych endosymbiontów.

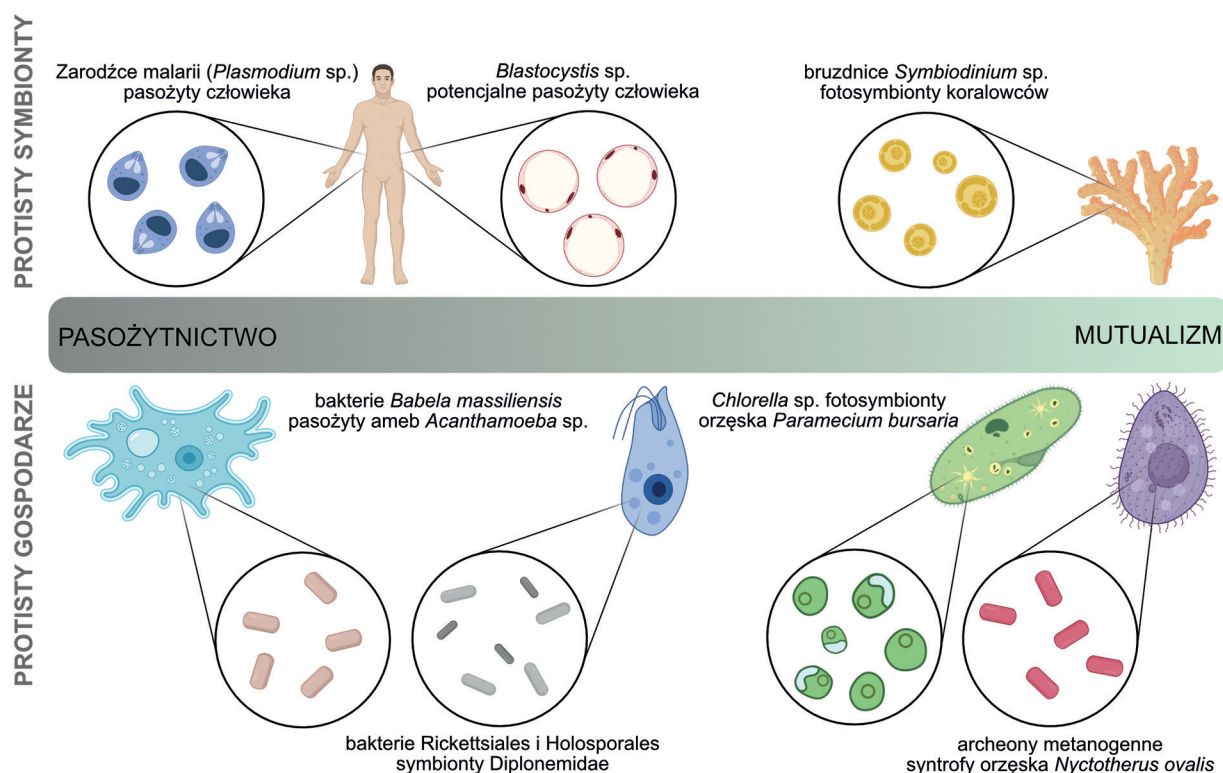
## GDZIE MOŻE BYĆ ENDOSYMBIONT?

Jak wygląda ścisła symbiotyczna relacja u protistów, które przecież nie mają tkanek, pomiędzy które symbionty mogłyby się wcisnąć? Wyróżnić możemy dwa podstawowe sposoby: endosymbioza – gdy symbiont jest wewnątrz komórki, lub ektosymbioza – gdy związany jest ze strukturami zewnętrznymi. Dobrymi przykładami ektosymbioz jest układ *Strebloplastix* (Metamonada, Excavata) z *Bacteroides* w jelitach termitów (Treitli i współaut. 2019), w oceanach Symbiontida (Discoba, Excavata) z bakteriami Deltaproteobakteria (Monteil i współaut. 2019), czy też *Calkinsia aureus* (Ryc. 2b) z podłużnymi bakteriami ściśle przylegającymi do zewnętrznej ściany komórki (Yubuki i Leander 2018).



Wewnątrz komórki symbiont najczęściej jest ulokowany w cytoplazmie, jednak są też takie przypadki, kiedy występuje specyficznie po wewnętrznej stronie błony jądra komórkowego gospodarza (np. bakterie *Holospora obtuse* w jądrze orzęska *Paramecium caudatum*) (Husnik i współaut. 2021). Mniej oczywista relacja wewnątrzkomórkowa występuje u ameby *Paramoeba*, gdzie endocytoplazmatyczny protist *Perkinsela* podąża w komórce gospodarza za jego jądrem, pozostając jednak po zewnętrznej stronie błony jądrowej (Tanifuji i współ-

nalna tych interakcji. Tak samo jak w świecie makro, mikroorganizmy prezentują całe spektrum, od pasożytniczych do ścisłych symbioz mutualistycznych (Ryc. 3). O ile za pomocą badań genomowych można w stosunkowo łatwy sposób zidentyfikować uczestników symbioz, o tyle zrozumienie ich funkcji wymaga więcej badań. Niektóre przypadki są w miarę jasne, np. ektosymbiont ameby *Nucleariida* rozkłada toksynę z pożywienia gospodarza, jednak zazwyczaj konkretna funkcja symbiontów nie jest znana.



Ryc. 3. Różnorodność symbioz w świecie protistów (rycina przygotowana z wykorzystaniem Biorender).

aut. 2017). Zdarzają się również układy, gdzie jednocześnie występuje zależność ekto- i endosymbiotyczna, jak u ameby *Nuclearia* gdzie endosymbiontem jest wewnątrzjądrowa *Endonucleariobacter*, a ektosymbiontem *Paucibacter* (Dirren i współaut. 2014).

### RÓŻNORODNOŚĆ FUNKCJONALNA SYMBIONTÓW

Razem z mnogością organizmów wchodzących w symbiozy idzie różnorodność funkcjo-

Najlepiej zbadane są protisty pasożytnicze, które pasożytują na wielokomórkowych gospodarzach. Lista jest tutaj długa, poza wspomnianymi wcześniej zarodźcem malarii czy czerwonki, uwagę zwracają też inne protisty, jak np. pasożytująca w mózgu ameba *Naegleria* czy inna ameba bytująca m. in. na rogówce oka. Duże znaczenie mają też protisty będące pasożytami zwierząt hodowlanych i domowych, jak np. różne gatunki *Trypanosoma* czy *Babesia*. Typowo pasożytniczych relacji między protistami jest niewiele. Wspomniana wcześniej grupa

Syndiniales specjalizuje się w pasożytnictwie – jest to grupa oceanicznych brudnic odkrytych dość późno, m in. ze względu na brak możliwości hodowli. Jako pasożyty brudnic biorą czynny udział w ograniczaniu ich toksycznych zakwitów. Były nawet brane pod uwagę jako czynnik kontroli populacji toksycznych brudnic, ale ze względu na problemy z hodowlą pomysł odrzucono. W późnej fazie zakwitu brudnic w badaniach molekularnych ponad połowę sekwencji stanowią właśnie te pochodzące z Syndiniales. Mogą one również pasożytować na grupie protistów MAST (Nagarkar i Palenik 2023), w której można znaleźć jeszcze inne protisty pasożytujące: *Solenicola setigera* (MAST-3) (Gómez i współaut. 2011). Ten mały (około 5 µm), heterotroficzny wiciowiec żyjący w koloniach, atakuje przede wszystkim okrzemki (Stramenopila, SAR). Więcej relacji pasożytniczych obserwuje się między bakteriami a protistami - typowym przykładem jest grupa bakterii Dependientiae, które charakteryzują się zredukowanymi genomami. Bakteria *Babela massiliensis* z tej grupy przystosowała się do pasożytnictwa na amebach *Acanthamoeba* (Pagnier i współaut. 2015), a *Chromulinavorax destructans* pasożytuje specyficznie na *Spumella* (Stramenopila, SAR). Genom tych bakterii jest tak zredukowany, że wiele jego szlaków metabolicznych jest dalece niekompletnych i musi korzystać z metabolitów produkowanych przez gospodarza. Dowodzi to długiej wspólnej ewolucji między gospodarzem a pasożytem, w której pasożyt staje się w pełni zależny od gospodarza (Husnik i współaut. 2021).

Czasami przed symbiontami patogennymi chronią inne symbionty. Zazwyczaj bakterie z rodzajów *Chlamydia* i *Legionella* pasożytują na różnego rodzaju amebach, istnieją jednak przypadki, gdzie obecność jednego symbionta broni przed innymi patogenami. Takim ciekawym przykładem jest układ, gdzie konkurują ze sobą dwie różne bakterie będące symbiontami ameby. Okazuje się, że wyizolowana z gleby *Acanthamoeba* jest gospodarzem dla bakterii z rodzaju *Neochlamydia*, broniących ją przed patogenem *Legionella* (Maita i współaut. 2018). Gdy ameba ma w sobie bakterie *Neochlamydia*,

bakterie patogeniczne *Legionella* albo nie mogą wniknąć do komórki, albo po wniknięciu nie powodują destrukcji cytoszkieletu i śmierci, w przeciwieństwie do ameb bez broniącego je endosymbionta. Innym przykładem współpracy gospodarza z symbiontem, a właściwie manipulacji gospodarzem przez symbionta, jest układ między orzęskami *Paramecium* i bakteriami *Caedibacter* (Husnik i współaut. 2021). W tym przypadku endosymbiont w komórkach z jednej strony jest niekorzystny dla orzęska, bo znacznie spowalnia jego rozwój, ale wolnożyjące *Caedibacter* atakują i zabijają tylko orzęski bez endosymbiontów – w ten sposób przeżywiają więc jedynie orzęski z endosymbiontami.

Wiele interakcji ma niejasną funkcję, zależną od warunków środowiskowych. Na przykład endosymbiotyczna bakteria *Preeria caryophila* hamuje wzrost orzęsków *Paramecium biaurelia*, gdy jego hodowla jest w stanie stagnacji, jednak gdy bakteria pojawia się w fazie intensywnych podziałów komórki orzęska, powoduje jeszcze większy rozrost hodowli. Mechanizmy działania nie zostały dotąd poznane. Zupełnie odwrotna sytuacja jest w przypadku haptofita *Emiliana huxleyi* (Haptista) i jego bakteryjnego ektosymbionta *Phaeobacter inhibens*, gdzie bakteria najpierw promuje wzrost gospodarza przez produkcję antybiotyków, po czym w pewnym momencie przestawia się na produkcję toksyn zabijających swojego gospodarza (Husnik i współaut. 2021). Na tych przykładach widać, że te same organizmy, zależnie od kontekstu środowiskowego, mogą wchodzić zarówno w interakcje pasożytnicze jak i mutualistyczne.

## SYMBIOZY MUTUALISTYCZNE

Relacje mutualistyczne wiążą się z przyniesieniem korzyści choć jednemu z partnerów. Może to być wymiana metabolitów, których brakuje w środowisku lub jeden z partnerów ich nie produkuje, schronienie lub nawet orientacja przestrzenna. Bez analizy metabolizmu partnerów mutualizm jest jednak trudny do odróżnienia od komensalizmu lub nawet pasożytnictwa.

Najbardziej spektakularne przykłady symbioz mutualistycznych oparte są na fotosymbiozie,

czyli interakcji symbiotycznej dwóch lub więcej organizmów, z których jeden jest zdolny do fotosyntezy (Not i współaut. 2016). Choć fototrofem może być zarówno gospodarz jak i symbiont, terminu tego używa się głównie w kontekście fototroficznego symbionta. Symbiozy takie można znaleźć w środowiskach lądowych, morskich i słodkowodnych i choć do najbardziej znanych przykładów należą porosty oraz i koralowce, to fotosymbiozy zdecydowanie częściej występują u mikroorganizmów jako gospodarzy. Wyewoluowały one wielokrotnie u różnorodnych, niespokrewnionych ze sobą grup gospodarzy i symbiontów. Występują u prawie wszystkich grup protistów, a symbiontami mogą być m.in. zielenice i krasnorosty (Archaeplastida) okrzemki (Stramenopila, SAR) i brudnice (Alveolata, SAR). Wiele brudnic nie posiada własnego chloroplastu i wtedy wchodzi w fotosymbiozy w roli gospodarza. Morskie brudnice mogą również posiadać fotosyntetyzujące ektosymbionty bakteryjne – cyjanobakterie. Większość fototsymbioz w wodach słodkich jest zdominowana przez orzęski, zupełnie przeciwnie do bardzo różnorodnych fotosymbioz morskich (Stoecker i współaut. 2009; Esteban i współaut. 2010; Summerer i współaut. 2008).

Modelem w badaniach fotosymbiozy jest słodkowodny orzęsek *Paramecium bursaria* (Ryc. 2a). Choć powszechnie mówi się, że jego symbiontem jest *Chlorella variabilis*, to dotychczas zidentyfikowano aż cztery gatunki zielonocowych endosymbiontów w różnych szczepach *P. bursaria* (Summerer i współaut. 2008). Istnieją również bardziej nietypowe przykłady fotosymbioz, jak już wcześniej wspomniany orzęsek *Pseudoblepharisma tenue* (Ryc. 2d), z dwoma fotosymbiontami – zielenicą i bakterią purpurową. Jest to również jeden z dwóch znanych przypadków symbionta przeprowadzającego fotosyntezę anoksygeniczną (Muñoz-Gómez i Hess 2023). Zależnie od tego, czy orzęsek znajduje się w strefie tlenowej czy beztlenowej, fotosyntezę przeprowadza jeden albo drugi symbiont: w strefie beztlenowej działa bakteria purpurowa, a tlenowej – zielenica.

Obecność fotosymbionta może przynosić szereg korzyści. Energia i węgiel z procesu

fotosyntezy umożliwiają przeżycie gospodarza w środowiskach oligotroficznych. W procesie fotosyntezy powstaje również tlen, który pokrywając zapotrzebowanie gospodarza umożliwia mu życie w środowiskach beztlenowych lub mikroaerofilnych (prawie beztlenowych). Symbiont natomiast otrzymuje od gospodarza azot i wszystkie substraty potrzebne do fotosyntezy, jest też chroniony przed drapieżnikami i wirusami (Stoecker i współaut. 2009; Esteban i współaut. 2010). Nie zawsze musi jednak chodzić o produkty fotosyntezy. U promienicy (Rhizaria, SAR) niektóre symbionty produkują dodatkowo sterole, które po uwolnieniu do środowiska zmniejszają podatność promienicy na zjedzenie przez drapieżniki (Stoecker i współaut. 2009). Czasami to właśnie wiązanie azotu jest główną rolą endosymbiotycznej cyjanobakterii, jak u okrzemek z rodzaju *Epithemia*. W tym przypadku cyjanobakterie żyjące wewnątrz okrzemek nie posiadają barwników fotosyntetycznych i najprawdopodobniej całe zapotrzebowanie na związki węgla u bakterii jest pokrywane przez fotosyntetycznego gospodarza (Not i współaut. 2016; Thompson i współaut. 2012; Schvarcz i współaut. 2022).

Wejście partnerów w fotosymbiozę zmienia ich wygląd i funkcjonowanie metabolizmu. W przypadku gospodarza zwiększa się rozmiar komórki i liczba mitochondriów oraz ekspresja genów odpowiedzialnych za metabolizm azotu i pobieranie jonów ze środowiska. U symbionta następuje powiększenie i namnożenie chloroplastów oraz natomiast wyciszeniu ulegają geny odpowiedzialne za syntezę wici i odpowiedzi na zmiany środowiska (He i współaut. 2019; Uwizeye i współaut. 2021; Kodama i Fujishima 2022). Istnieje więcej dowodów kontroli metabolizmu symbionta przez gospodarza niż odwrotnego procesu, jednak symbiont może bronić się przed strawieniem przez gospodarza używając zjawiska interferencji RNA (Jenkins i współaut. 2021).

Fotosymbioza nie jest jedynym sposobem uzyskania fototrofii przez organizmy. Niektóre organizmy po wchłonięciu glona ze środowiska trawią prawie całą jego komórkę, poza chloroplastem. Przejęty chloroplast (nazywany kleptoplastem) przez pewien czas zachowuje swoją

aktywność, przeprowadzając fotosyntezę i dostarczając jej produkty gospodarzowi. Zjawisko to występuje u tych samych grup organizmów co fotosymbioza i jest dużo bardziej zróżnicowane w środowiskach morskich niż słodkowodnych (Stoecker i współaut. 2009). Ciekawym przykładem kleptoplastii jest ta występująca u orzęska *Mesodinium rubrum*. Występuje on powszechnie w oceanach i tworzy zakwity w wodach przybrzeżnych. Organizm ten przejmuje chloroplast od morskich kryptofitów, ale nie tylko, bo zachowuje również ich jądro komórkowe. Takie jądro nazywane jest kleptokarionem i pozostaje aktywne w komórce orzęska, co przedłuża aktywność kleptoplastu. Dodatkowo kleptokarion uczestniczy w syntezie aminokwasów, kwasów tłuszczowych i innych metabolitów, z których korzysta orzęsek. Holobiont posiada materiał genetyczny o bardzo zróżnicowanym pochodzeniu. Na cały materiał genetyczny składają się genom jądrowy i genom mitochondrialny pochodzenia orzęskowego oraz genom jądrowy, genom plastydowy i dodatkowo genom nukleomorfu (szczątkowego jądra, które jest pozostałością po procesie endosymbiozy wtórnej u kryptofitów) pochodzące od kryptofita (Johnson i współaut. 2023).

Proste odżywcze interakcje mutualistyczne prawdopodobnie nie są tak powszechne u protistów jak u zwierząt, są jednak najłatwiejsze do identyfikacji i takie właśnie zostały najdokładniej opisane. Najczęściej występują u protistów, które nie prowadzą fagotrofii (nie pobierają pożywienia ze środowiska w postaci większych cząsteczek). Te fagotroficzne często "hodują" swojego endosymbionta jako potencjalne źródło pożywienia w przypadku braku ofiary w środowisku, czego symbiozą mutualistyczną nazwać nie można (Gast i współaut. 2009). Dobrze przebadane są symbionty bakteryjne symbiotycznych protistów, np. żyjących w układzie pokarmowym termitów. Owady te żywią się drewnem, ale nie są w stanie same go strawić. Z pomocą przychodzą protisty z dwóch grup: Parabasalia i Oxymonada (Metamonada, Excavata). Te beztlenowe wiciowce zawierają bakterie zarówno ekto- jak i endobiotyczne, które wiążą azot i produkują enzymy konieczne

do rozkładu celulozy. Do tego już skomplikowanego systemu wchodzi czasem też meta- notroficzne archeony, jednak w tym układzie ich funkcja nie jest dobrze poznana (Husnik i współaut. 2021). Inne owady również bywają gospodarzami dla protistów *Trypanosoma*, związanych z bakteriami odpowiedzialnymi za dostarczanie puryn, niektórych aminokwasów, azotu i witamin (Harmer i współaut. 2018). Innym istotnym metabolitem są witaminy, w tym witamina B12, której jest niewiele w oceanach. Wiele protistów pozyskuje ją właśnie od swoich bakteryjnych endosymbiontów. Kolejnym czynnikiem limitującym wzrost w oceanach jest biodostępny azot i żelazo. Azot często jest wiązany z atmosfery przy okazji fotosymbioz z cyjanobakteriami, ale mogą go też udostępniać ekto- i endosymbiotyczne alfa- beta- i gammaproteobakterie. Znanym dostawcą żelaza jest natomiast bakteria ekto- i endosymbiotyczna *Marinobacter* (Husnik i współaut. 2021).

Innym przykładem ścisłej interakcji mutualistycznej jest syntrofia – relacja, w której partnerzy przeprowadzają wspólny metabolizm i wspólnie zależą od produkowanych przez siebie metabolitów lub współpracują w usuwaniu toksycznych metabolitów. Występuje często w kontekście metabolizmu beztlenowego. Zależność ta występuje między bakteriami lub archeonami a hydrogenosomami (organelami produkującymi wodór, powstałymi ze zredukowania mitochondriów w środowisku beztlenowym) występującymi u beztlenowych orzęsków, ameb oraz związanych z termitami protistów z grup Oxymonadida i Parabasalia (Metamonada, Excavata). Aktywność hydrogenosomów zapewnia stałe źródło wodoru, który jest wykorzystywany przez archeony metanogenne do procesu metanogenezy (fermentacji metanowej), a przez bakterie z grup Deltaproteobacteria i Spirochaetes do redukcji siarczanów i reduktywnej acetogenezy. Bakterie mogą również przeprowadzać proces wiązania azotu cząsteczkowego. W relacji z jedną komórką protista może występować jednocześnie kilka gatunków bakterii pobierających wodór lub bakterie i archeony metanogenne. Część z tych symbiontów ma genomy bogate w pseudogeny



i pozbawione genów kodujących białka odpowiedzialne za reagowanie na zmiany środowiska oraz syntezę aminokwasów, co sugeruje, że są to interakcje w trakcie zacieśniania (Husnik i współaut. 2021; Ohkuma 2008; Lind i współaut. 2018). Korzystanie z wodoru przez symbionty powoduje zmianę metabolizmu gospodarza z produkcji maślanów na produkcję octanów, co ułatwia jego wzrost. Eliminacja wodoru może też zwiększyć metabolizm hydrogenosomów, co jest kolejną korzyścią dla gospodarza. Obecność archeonów metanogennych nie musi być konieczna dla funkcjonowania gospodarza, jednak zdecydowanie korzystnie wpływa na jego wzrost (Husnik i współaut. 2021; Hongoh i współaut. 2008; Yamada i współaut. 1997).

Spektakularnym przykładem symbioz są również te odpowiedzialne za taksję, czyli ukierunkowany ruch organizmu. W przypadku protistów znany jest co najmniej jeden dobrze udokumentowany przypadek. Ektosymbiotyczne deltaproteobakterie u przedstawiciela *Symbiontida* (Discoba, Excavata) występującego w beztlenowych osadach morskich, odpowiadają za magnetotaksję – podążanie w kierunku bieguna magnetycznego. Bakteryjny symbiont prowadzi biomineralizację ferromagnetycznych nanocząstek ze środowiska, umożliwiającą orientację w magnetoprzestrzeni. Dzięki temu gospodarz podąża w zsynchronizowany sposób ku biegunowi magnetycznemu (Monteil i współaut. 2019).

## SYMBIOZY A EWOLUCJA EUKARIOTA

Symbiozy możemy obserwować nie tylko u współcześnie żyjących organizmów, miały one również kluczowe znaczenie dla ewolucji życia na Ziemi. W wyniku endosymbioz powstały organelle komórkowe – mitochondria i chloroplasty, które zaważyły na sukcesie ewolucyjnym organizmów eukariotycznych (Archibald 2015). Koncepcja ich endosymbiotycznego pochodzenia od bakterii ugruntowała się w latach 60. ubiegłego wieku, dzięki badaniom Lynn Margulis (Sagan 1967). Dopiero metody molekularne pozwoliły jednak wykazać podobieństwo genomów organellarnych i bakteryjnych,

niepodważalnie wskazując na ich endosymbiotyczne pochodzenie: mitochondriów od alfa-proteobakterii i chloroplastów od cyjanobakterii (López-García i współaut. 2017).

Endosymbioza mitochondriów a także pierwotna endosymbioza chloroplastów u wspólnego przodka zielenic, krasnorostów i glaukocystofitów (Archaeplastida), to zdarzenia bardzo dawne. Szczegóły ich przebiegu, w tym mechanizmy utrwalenia endosymbiontów są trudne do zbadania. Pierwotna endosymbioza chloroplastów to jednak nie koniec ich endosymbiotycznej historii. W toku ewolucji różne inne linie pierwotnie heterotroficznych eukariontów weszły w kolejne endosymbiozy z fotosyntetyzującymi eukariontami. Takie zdarzenia nazywamy wtórną endosymbiozą, ale znamy też bardziej złożone układy, w których chloroplasty są zastępowane w toku kolejnych endosymbioz (tzw. seryjna endosymbioza). W konsekwencji wśród organizmów eukariotycznych możemy znaleźć szereg linii filogenetycznych zdolnych do fotosyntezy, które są często niespokrewnione (Keeling 2013). Chloroplasty z wtórnej endosymbiozy z zielenicami mają np. powszechnie znane eugleniny, a za to chloroplasty pochodzenia krasnorostowego obecne są np. u okrzemek.

Endosymbiozy, w których dochodzi do nabycia funkcji fotosyntetycznej, są oczywiście korzystne dla gospodarza uzyskującego w ten sposób możliwość przejścia czasowo lub na stałe na autotroficzny tryb życia. Są to więc zwykle symbiozy bardzo ściśle i w związku z tym, w przypadku chloroplastów i mitochondriów, nie mówimy o endosymbiontach, ale o organelach. Jaka jest więc właściwie różnica? Według definicji organelle są najbardziej ścisłym i końcowym etapem endosymbiozy, w którym gospodarz kontroluje endosymbionta poprzez kierowanie do organelli białek kodowanych w jego genomie jądrowym. Przez długi czas uważano, że tak ścisła endosymbioza występuje jedynie w przypadku mitochondriów i chloroplastów, jednak odkrycie niezależnej endosymbiozy cyjanobakterii *Cyanobium* u ameby z rodzaju *Paulinella* zatarało granicę między endosymbiontem a organelłą. Endosymbioza ta miała miejsce stosunkowo niedawno (~60 milionów

lat temu) w porównaniu do powstania chloroplastów, ale jest w dużej mierze analogiczna (Sidorczyk i współaut. 2018). Występuje jedynie u niewielkiej grupy ameb, ale jej badania pomogły lepiej zrozumieć mechanizmy endosymbiozy organelli. Według przedstawionej wcześniej definicji, w tym wypadku właściwie również powinniśmy mówić o organelli, gdyż ponad 30 genów cyjanobakteryjnych zostało przeniesionych do genomu *Paulinella*, a ich białkowe produkty są następnie kierowane do endosymbionta i biorą udział w jego szlakach metabolicznych (Nowack i Grossman 2012). *Paulinella* i jej endosymbiont są więc znakomitym modelem do badania pierwotnej endosymbiozy chloroplastów i zjawisk takich jak utrata genów przez endosymbionta, oraz kontrola gospodarza nad symbiontem.

Na razie nie dysponujemy analogicznym modelem do badań nad ewolucją mitochondriów, między innymi dlatego, że wszystkie eukarionty wyewoluowały od wspólnego przodka, który już je posiadał. Wiele linii ewolucyjnych mikroorganizmów eukariotycznych zasiedla jednak środowiska beztlenowe i w związku z tym ich mitochondria uległy znacznej redukcji, a organizmy w tych warunkach czerpią energię głównie z fermentacji. U beztlenowych protistów możemy zaobserwować wiele interesujących relacji endosymbiotycznych, opisywanych już w poprzednich rozdziałach, ale na szczególną uwagę, w kontekście powstawania nowych organelli, zasługuje niedawno opisana obligatoryjna symbioza „*Candidatus Azoamicus ciliaticola*” z beztlenowym orzęskiem. Endosymbiont ten odgrywa szczególną rolę w oddychaniu i dostarczaniu energii swojemu eukariotycznemu żywicielowi. Genom symbionta jest znacznie zredukowany, ale zawiera geny kodujące białka umożliwiające proces denitryfikacji, czyli oddychania beztlenowego, co umożliwia gospodarzowi oddychanie azotanami zamiast tlenu. „*Candidatus A. ciliaticola*” i jego gospodarz stanowią przykład symbiozy opartej na przekazywaniu energii w postaci ATP, a nie na odżywianiu. Odkrycie to sugeruje, że przynajmniej niektóre eukarionty ze zredukowanymi mitochondriami mogą wtórnie pozyskiwać

endosymbionty dostarczające energii w celu uzupełnienia lub zastąpienia funkcji ich mitochondriów (Graf i współaut. 2021).

Czy „*Candidatus A. ciliaticola*” w toku ewolucji stanie się nową organellą komórkową? Nie możemy tego wykluczyć, ale na razie nie jest to jeszcze tak ścisła symbioza, jak ta z chloroplastami czy mitochondriami. Nie znamy na razie zbyt wielu innych symbioz, w których dochodzi do masowego transferu genów do komórek gospodarza, ani do kierowania białek kodowanych przez gospodarza do komórek endosymbionta, czyli procesów charakterystycznych dla tych organelli. Zwykle endosymbiozy nie są też opisywane na tak szczegółowym poziomie, ale liczne badania wskazują, że być może również w innych interakcjach endosymbionty są już „prawie” organellami. Znakomitym przykładem jest tutaj interakcja pomiędzy przedstawicielem pasożytniczych kinetoplastydów z rodzaju *Angomonas* (*Discoba*, *Excavata*) i ich obligatoryjnymi symbiontami *Candidatus Kinetoplastibacterium crithidii* (Morales i współaut. 2023). O postępującej integracji tych dwóch organizmów może świadczyć obecność w genomie gospodarza siedmiu genów pochodzących od endosymbionta, które kodują białka kierowane do bakteryjnego endosymbionta – trzy z nich stanowią część mechanizmu podziału endosymbionta, co sugeruje kontrolę tego układu przez gospodarza. Wydaje się, że granicę endosymbiont-organella przekroczyła endosymbiotyczna bakteria *Candidatus Atelocyanobacterium thalassa*, która została niedawno opisana jako nowy rodzaj organelli – nitroplast (Coale i współaut. 2024). Do tej pory bakteria ta znana była jako endosymbiont wiążący azot u haptofita *Braarudosphaera bigelowii* (*Haptista*). Dowiedziono jednak, że dochodzi do importu białek kodowanych przez genom gospodarza do endosymbionta, który jest bardzo ściśle zintegrowany z komórką gospodarza i jej podziałem.

## SYMBIOZY PROTISTÓW W ŚRODOWISKU

Protisty tworzą ogromną grupę organizmów, stojącą u podstawy sieci troficznych w oceanach i wodach słodkich. Wraz z cyjanobakteriami

odpowiedzialne są za produkcję pierwotną w oceanach. W ujęciu rocznym produkcja pierwotna pochodząca wyłącznie z fotosymbioz (gdzie fotosyntetyzują endosymbiotyczne mikroorganizmy u heterotroficznych protistów – gospodarzy) to około 1%, ale w sprzyjających warunkach środowiskowych może osiągać aż do 20% (Selosse i współaut. 2017). Fotosymbionty pozwalają też dużym protistom tworzącym szkielety zewnętrzne przeżyć w środowiskach ubogich w substancje odżywcze. Dzięki temu związki takie jak wapń, węgiel, stront czy krzem inkorporowane są w ich struktury komórkowe. Martwe komórki opadają następnie na dno zbiorników, nie wracając natychmiast do obiegu pierwiastków (Stoecker i współaut. 2009). Jest to jeden z mechanizmów ograniczających eutrofizację (wzbogacanie w substancje odżywcze) wód, co zapobiega rozwojowi i zakwitom m.in. toksycznych cyjanobakterii czy bruzdnic.

Heterotroficzne protisty są za to głównym konsumentem bakterii. Poza funkcją producentów pierwotnych, zarówno fototroficzne jak i heterotroficzne protisty stanowią też pokarm dla drobnego zooplanktonu. Wreszcie protisty są też pasożytami licznych grup mikro- i makroorganizmów, Wszystkie te organizmy wchodzą w interakcje symbiotyczne, a co za tym idzie stabilność tych relacji jest kluczowa dla funkcjonowania ekosystemów.

Najbardziej znanym przykładem wpływu zmian środowiskowych na interakcje protistów z innymi organizmami jest wymieranie raf koralowych. Pod wpływem wzrostu temperatury i spadku pH wody oceanicznej, koralowce tracą symbiotyczne bruzdnice, po czym całe połacie Wielkiej Rafy Koralowej obumierają – bez dostarczanych wcześniej przez symbionta substancji odżywczych koralowce nie są w stanie żyć. Jak widać na tym przykładzie, jeśli jeden z uczestników układu nie jest w stanie dostosować się do szybkich zmian klimatycznych, pociąga drugiego za sobą. Wiadomo też, że na zmiany środowiskowe wrażliwe są też relacje, w których zależnie od warunków symbioza ma charakter pasożytniczy lub mutualistyczny, jak u niektórych orzęsków czy ameb. Czy w innych

warunkach środowiskowych dynamika układu nie zmieni się, czy może symbiont kiedyś mutualistyczny stanie się pasożytem? Znamy też środowiska, w których relacje symbiotyczne występują częściej niż w innych, takie jak strefy beztlenowe w wodach słodkich i słonych. Czy w świetle pędzących zmian środowiskowych pojawi się więcej organizmów zdolnych do przebywania w tych warunkach? Czy obecnie funkcjonujące układy symbiotyczne będą trwałe i wszyscy ich uczestnicy dostosują się do zmian, czy może gospodarze będą zastępowali swoje symbionty innymi? Badanie wpływu zmian środowiskowych na stabilność symbioz u protistów może pomóc przewidzieć kierunek zmian w sieciach troficznych i umożliwić nam przygotowanie się do nadchodzących wyzwań.

## PODSUMOWANIE

Liczba znanych i opisanych symbioz z udziałem mikroorganizmów eukariotycznych jest oczywiście dużo dłuższa, niż przykłady przytoczone w poprzednich podrozdziałach. Dla wielu z tych symbioz, opisanych na podstawie obserwacji mikroskopowych, nie zidentyfikowano do tej pory dokładnie partnerów, w szczególności jeżeli chodzi o partnerów prokariotycznych. Wraz z rozwojem technik sekwencjonowania coraz łatwiej identyfikować jest mikroorganizmy, co ma miejsce również u symbiontów protistów. Jednocześnie nadal większość tych układów jest trudna do bliższego scharakteryzowania, gdyż możemy je zaobserwować albo tylko w środowisku albo krótko po przeniesieniu ich do laboratorium – układy te są często niestabilne w dłuższej perspektywie czasowej i trudne w hodowli. Większość eksperymentów, które umożliwiają odpowiedź na pytania dotyczące natury badanych interakcji, jest jednak możliwa jedynie w oparciu o hodowle mikroorganizmów, co dostarcza dużej liczby komórek i daje możliwość powtarzalnych manipulacji eksperymentalnych. Dlatego tak ważne są wysiłki, które mają na celu uzyskanie hodowli protistów, w tym tych w relacjach symbiotycznych (Del Campo i współaut. 2024). Z drugiej strony natura interakcji może znacznie zmieniać

się zależnie od warunków, i w związku z tym badanie organizmów w warunkach laboratoryjnych może nie odzwierciedlać rzeczywistych interakcji zachodzących w środowisku. Alternatywą jest tutaj podejście polegające na badaniu populacji pojedynczych komórek bezpośrednio pobranych ze środowiska, w podobny sposób do badań populacji komórek z różnych tkanek u organizmów wielokomórkowych (tzw. cell atlas). Na razie jest to zadanie trudne technicznie i nie jest jeszcze szeroko stosowane, ale z pewnością jest jedną z najbardziej kompleksowych i dokładnych metod, które przyniosą ważne odkrycia dotyczące funkcjonowania symbioz u protistów (Alacid i Richards 2021). Wyzwanie stanowi również wielkoskalowa analiza symbioz w środowisku; tylko dla niektórych typów symbioz (np. fotosymbiozy orzęsków) wiemy więcej o częstości ich występowania i warunkach środowiskowych, które sprzyjają takim interakcjom. Dla większości symbioz, niewidocznych w mikroskopie świetlnym, nie znamy wzorców ich występowania w czasie i przestrzeni, a co za tym idzie trudno nam precyzyjnie przewidzieć ich rolę w ekosystemach. Wiele pytań pozostaje więc na razie bez odpowiedzi, ale wykorzystanie nowoczesnych technik i rosnące zainteresowanie symbiozami protistów gwarantują wiele ciekawych odkryć w najbliższych latach.

#### WKŁAD AUTORÓW

Marta Sałek: rozdziały o uczestnikach interakcji symbiotycznych, o funkcjach tych uczestników (poza fotosymbiozą i syntrofią) i o roli protistów w środowisku, przygotowanie ryciny 2; Małgorzata Chwalińska: rozdziały o metodach badania symbioz, fragmenty o fotosymbiozie i syntrofii oraz przygotowanie ryciny 3; Anna Karnkowska: koncepcja artykułu, rozdziały wstępne, podsumowanie i rola symbioz w ewolucji eukariota, przygotowanie ryciny 1.

#### PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy dr. Naoji Yubukiemu z Instytutu Curie (Francja) za udostępnienie zdjęcia

*Calkinsia aureus* (Rycina 2) oraz prof. Sebastianowi Hessowi z Technical University of Darmstadt (Niemcy) za udostępnienie zdjęcia *Pseudoblepharisma tennue* (Rycina 2). Niniejsza publikacja powstała przy wsparciu finansowemu z Narodowego Centrum Nauki, grant OPUS (2020/37/B/NZ8/01456) i grant Preludium BIS (2021/43/O/NZ8/01387).

#### BIBLIOGRAFIA

- Alacid E., Richards T.A., 2021. *A cell–cell atlas approach for understanding symbiotic interactions between microbes*. *Curr. Opin. Microbiol.* 64, 47–59.  
[www.doi.org/10.1016/j.mib.2021.09.001](https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.09.001)
- Archibald J.M., 2015. *Endosymbiosis and eukaryotic cell evolution*. *Curr. Biol.* 25, R911–R921.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.055>
- Balzano S., Corre E., Decelle J., Sierra R., Wincker P. i współaut., 2015. *Transcriptome analyses to investigate symbiotic relationships between marine protists*. *Front. Microbiol.* 6.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00098>
- Bjorbækmo M.F.M., Evenstad A., Røsæg L.L., Krabberød A.K., Logares R., 2020. *The planktonic protist interactome: where do we stand after a century of research?* *ISME J.* 14, 544–559.  
<https://doi.org/10.1038/s41396-019-0542-5>
- Boscaro V., Felletti M., Vannini C., Ackerman M.S., Chain P.S.G. i współaut., 2013. *Polynucleobacter necessarius, a model for genome reduction in both free-living and symbiotic bacteria*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 18590–18595.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1316687110>
- Burki F., Roger A.J., Brown M.W., Simpson A.G.B., 2020. *The new tree of eukaryotes*. *Trends Ecol. Evol.* 35, 43–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.08.008>
- Coale T.H., Loconte V., Turk-Kubo K.A., Vanslebrouck B., Mak W.K.E. i współaut., 2024. *Nitrogen-fixing organelle in a marine alga*. *Science* 384, 217–222.  
<https://doi.org/10.1126/science.adk1075>



- Decelle J., Colin S., Foster R.A., 2015. Photosymbiosis in marine planktonic protists. [W:] *Marine Protists: Diversity and Dynamics*. Ohtsuka S., Suzaki T., Horiguchi T., Suzuki N., Not F. (red.). Springer Japan, Tokyo, 465–500.  
[https://doi.org/10.1007/978-4-431-55130-0\\_19](https://doi.org/10.1007/978-4-431-55130-0_19)
- Del Campo J., Carlos-Oliveira M., Čepička I., Hehenberger E., Horák A. i współaut., 2024. *The protist cultural renaissance*. Trends Microbiol. 32, 128–131.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.11.010>
- Dirren S., Salcher M.M., Blom J.F., Schweikert M., Posch T., 2014. *Ménage-à-trois: The amoeba Nuclearia sp. from lake Zurich with its ecto- and endosymbiotic bacteria*. Protist 165, 745–758.  
[www.doi.org/10.1016/j.protis.2014.08.004](http://www.doi.org/10.1016/j.protis.2014.08.004)
- Drew G.C., Stevens E.J., King K.C., 2021. *Microbial evolution and transitions along the parasite–mutualist continuum*. Nat. Rev. Microbiol. 19, 623–638.  
[www.doi.org/10.1038/s41579-021-00550-7](http://www.doi.org/10.1038/s41579-021-00550-7)
- Esteban G.F., Fenchel T., Finlay B.J., 2010. *Mixotrophy in ciliates*. Protist 161, 621–641.
- Gast R.J., Sanders R.W., Caron D.A., 2009. *Ecological strategies of protists and their symbiotic relationships with prokaryotic microbes*. Trends Microbiol. 17, 563–569.  
[www.doi.org/10.1016/j.tim.2009.09.001](http://www.doi.org/10.1016/j.tim.2009.09.001)
- Gile G.H., 2024. *Protist symbionts of termites: diversity, distribution, and coevolution*. Biol. Rev. 99, 622–652.  
<https://doi.org/10.1111/brv.13038>
- Gómez F., Moreira D., Benzerara K., López-García P., 2011. *Solenicola setigera is the first characterized member of the abundant and cosmopolitan uncultured marine stramenopile group MAST-3*. Environ. Microbiol. 13, 193–202.  
[doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02320.x](http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02320.x)
- Gordon B.R., Leggat W., 2010. *Symbiodinium–invertebrate symbioses and the role of metabolomics*. Mar. Drugs 8, 2546–2568.  
<https://doi.org/10.3390/md8102546>
- Graf J.S., Schorn S., Kitzinger K., Ahmerkamp S., Woehle C. i współaut., 2021. *Anaerobic endosymbiont generates energy for ciliate host by denitrification*. Nature 591, 445–450.  
[www.doi.org/10.1038/s41586-021-03297-6](http://www.doi.org/10.1038/s41586-021-03297-6)
- Harmer J., Yurchenko V., Nenarokova A., Lukeš J., Ginger M.L., 2018. *Farming, slaving and enslavement: histories of endosymbioses during kinetoplastid evolution*. Parasitology 145, 1311–1323.  
[www.doi.org/10.1017/S0031182018000781](http://www.doi.org/10.1017/S0031182018000781)
- He M., Wang J., Fan X., Liu X., Shi W. i współaut., 2019. *Genetic basis for the establishment of endosymbiosis in Paramecium*. ISME J. 13, 1360–1369.  
[www.doi.org/10.1038/s41396-018-0341-4](http://www.doi.org/10.1038/s41396-018-0341-4)
- Herrera P., Schuster L., Wentrup C., König L., Kempinger T. i współaut., 2020. *Molecular causes of an evolutionary shift along the parasitism–mutualism continuum in a bacterial symbiont*. Proc. Natl. Acad. Sci. 117, 21658–21666.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2005536117>
- Hess S., 2017. *Description of Hyalodiscus flabellus sp. nov. (Vampyrellida, Rhizaria) and identification of its bacterial endosymbiont, Candidatus Megaira polyxenophila” (Rickettsiales, Alphaproteobacteria)*. Protist 168, 109–133.  
[www.doi.org/10.1016/j.protis.2016.11.003](http://www.doi.org/10.1016/j.protis.2016.11.003)
- Hollender M., Salek M., Karlicki M., Karnkowska A., 2024. *Single-cell genomics revealed Candidatus Grellia alia sp. nov. as an endosymbiont of Eutreptiella sp. (Euglenophyceae)*. Protist 175, 126018.  
[www.doi.org/10.1016/j.protis.2024.126018](http://www.doi.org/10.1016/j.protis.2024.126018)
- Hongoh Y., Sharma V.K., Prakash T., Noda S., Toh H. i współaut., 2008. *Genome of an endosymbiont coupling N<sub>2</sub> fixation to cellulolysis within protist cells in termite gut*. Science 322, 1108–1109.  
<https://doi.org/10.1126/science.1165578>
- Husnik F., Tashyreva D., Boscaro V., George E.E., Lukeš J. i współaut., 2021. *Bacterial and archaeal symbioses with protists*. Curr. Biol. 31, R862–R877.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.05.049>
- Jenkins B.H., Maguire F., Leonard G., Eaton J.D., West S. i współaut., 2021. *Emergent RNA–RNA interactions can promote stability in a facultative phototrophic endosymbiosis*.

- Proc. Natl. Acad. Sci. 118, e2108874118.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2108874118>
- Johnson M.D., Moeller H.V., Paight C., Kellogg R.M., McIlvin M.R. i wspóla., 2023. *Functional control and metabolic integration of stolen organelles in a photosynthetic ciliate*. *Curr. Biol.* 33, 973–980.e5.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.01.027>
- Keeling P.J., 2013. *The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 583–607.  
[doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120144](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120144)
- Kodama Y., Fujishima M., 2022. *Endosymbiotic Chlorella variabilis reduces mitochondrial number in the ciliate Paramecium bursaria*. *Sci. Rep.* 12, 8216.  
[www.doi.org/10.1038/s41598-022-12496-8](https://doi.org/10.1038/s41598-022-12496-8)
- Ku C., Sebé-Pedrós A., 2019. *Using single-cell transcriptomics to understand functional states and interactions in microbial eukaryotes*. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 374, 20190098.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0098>
- Lind A.E., Lewis W.H., Spang A., Guy L., Embley T.M. i wspóla., 2018. *Genomes of two archaeal endosymbionts show convergent adaptations to an intracellular lifestyle*. *ISME J.* 12, 2655–2667.  
<https://doi.org/10.1038/s41396-018-0207-9>
- López-García P., Eme L., Moreira D., 2017. *Symbiosis in eukaryotic evolution*. *J. Theor. Biol.* 434, 20–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.02.031>
- Maita C., Matsushita M., Miyoshi M., Okubo T., Nakamura S. i wspóla., 2018. *Amoebal endosymbiont Neochlamydia protects host amoebae against Legionella pneumophila infection by preventing Legionella entry*. *Microbes Infect.* 20, 236–244.  
[www.doi.org/10.1016/j.micinf.2017.12.012](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2017.12.012)
- Monteil C.L., Vallenet D., Menguy N., Benzera K., Barbe V. i wspóla., 2019. *Ectosymbiotic bacteria at the origin of magnetoreception in a marine protist*. *Nat. Microbiol.* 4, 1088–1095.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-019-0432-7>
- Morales J., Ehret G., Poschmann G., Reinicke T., Maurya A.K. i wspóla., 2023. *Host-symbiont interactions in Angomonas deanei include the evolution of a host-derived dynamin ring around the endosymbiont division site*. *Curr. Biol.* 33, 28–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.11.020>
- Muñoz-Gómez S.A., Hess S., 2023. *Purple photosymbioses*. *Curr. Biol.* 33, R167–R170.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.01.015>
- Muñoz-Gómez S.A., Kreutz M., Hess S., 2021. *A microbial eukaryote with a unique combination of purple bacteria and green algae as endosymbionts*. *Sci. Adv.* 7, eabg4102.  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abg4102>
- Nagarkar M., Palenik B., 2023. *Diversity and putative interactions of parasitic alveolates belonging to Syndiniales at a coastal Pacific site*. *Environ. Microbiol. Rep.* 15, 157–169.  
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.13138>
- Not F., Probert I., Gerikas Ribeiro C., Crenn K., Guillou L. i wspóla., 2016. *Photosymbiosis in marine pelagic environments*. [W:] *The Marine Microbiome: An Untapped Source of Biodiversity and Biotechnological Potential*. Stal L.J., Cretoiu M.S. (red.). Springer International Publishing, Cham, pp. 305–332.  
[www.doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6_11)
- Nowack E.C.M., Grossman A.R., 2012. *Trafficking of protein into the recently established photosynthetic organelles of Paulinella chromatophora*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 5340–5345.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1118800109>
- Ohkuma M., 2008. *Symbioses of flagellates and prokaryotes in the gut of lower termites*. *Trends Microbiol.* 16, 345–352.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.04.004>
- Pagnier I., Yutin N., Croce O., Makarova K.S., Wolf Y.I. i wspóla., 2015. *Babela massiliensis, a representative of a widespread bacterial phylum with unusual adaptations to parasitism in amoebae*. *Biol. Direct* 10, 13.  
<https://doi.org/10.1186/s13062-015-0043-z>
- Pillonel T., Bertelli C., Greub G., 2018. *Environmental metagenomic assemblies reveal seven new highly divergent Chlamydial lineages and hallmarks of a conserved intracellular lifestyle*. *Front. Microbiol.* 9.

- <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00079>  
Pomahač O., Méndez-Sánchez D., Poláková K., Müller M., Solito M.-M. i współaut., 2023. *Rediscovery of remarkably rare anaerobic tentaculiferous ciliate genera Legendrea and Dactylochlamys (Ciliophora: Litostomatea)*. *Biology* 12, 707.  
<https://doi.org/10.3390/biology12050707>
- Sagan L., 1967. *On the origin of mitosing cells*. *J. Theor. Biol.* 14, 225-236.  
[www.doi.org/10.1016/0022-5193\(67\)90079-3](http://www.doi.org/10.1016/0022-5193(67)90079-3)
- Schvarcz C.R., Wilson S.T., Caffin M., Stancheva R., Li Q. i współaut., 2022. *Overlooked and widespread pennate diatom-diazotroph symbioses in the sea*. *Nat. Commun.* 13, 799.  
[www.doi.org/10.1038/s41467-022-28065-6](http://www.doi.org/10.1038/s41467-022-28065-6)
- Selosse M., Charpin M., Not F., 2017. *Mixotrophy everywhere on land and in water: the grand écart hypothesis*. *Ecol. Lett.* 20, 246–263.
- Sidorczuk K., Mackiewicz P., Gagat P., 2018. *Paulinella chromatophora – niezwykła fotosyntetyczna przygoda ameby i sinicy*. *Kosmos* 67, 661–673.  
[https://doi.org/10.36921/kos.2018\\_2455](https://doi.org/10.36921/kos.2018_2455)
- Stoecker D.K., Johnson M.D., de Vargas C., Not F., 2009. *Acquired phototrophy in aquatic protists*. *Aquat. Microb. Ecol.* 57, 279–310.  
<https://doi.org/10.3354/ame01340>
- Summerer M., Sonntag B., Sommaruga R., 2008. *Ciliate-symbiont specificity of freshwater endosymbiotic Chlorella (Trebouxiophyceae, Chlorophyta)*. *J. Phycol.* 44, 77–84.  
[doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00455.x](http://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00455.x)
- Tanifuji G., Cenci U., Moog D., Dean S., Nakayama T. i współaut., 2017. *Genome sequencing reveals metabolic and cellular interdependence in an amoeba-kinetoplastid symbiosis*. *Sci. Rep.* 7, 11688.  
[www.doi.org/10.1038/s41598-017-11866-x](http://www.doi.org/10.1038/s41598-017-11866-x)
- Tashyreva D., Prokopchuk G., Votýpka J., Yubuki A., Horák A., i współaut., 2018. *Life cycle, ultrastructure, and phylogeny of new diplomonads and their endosymbiotic bacteria*. *mBio* 9, 10.1128/mbio.02447-17.  
<https://doi.org/10.1128/mbio.02447-17>
- Thompson A.W., Foster R.A., Krupke A., Carter B.J., Musat N., i współaut., 2012. *Unicellular cyanobacterium symbiotic with a single-celled eukaryotic alga*. *Science* 337, 1546–1550.  
<https://doi.org/10.1126/science.1222700>
- Treitli S.C., Kolisko M., Husník F., Keeling P.J., Hampl V., 2019. *Revealing the metabolic capacity of *Streblospiothrix strix* and its bacterial symbionts using single-cell metagenomics*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 19675–19684.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1910793116>
- Uwizeye C., Brisbin M. M., Gallet B., Chevalier F., LeKieffre C. i współaut., 2021. *Cytoklepty in the plankton: A host strategy to optimize the bioenergetic machinery of endosymbiotic algae*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 118, e2025252118.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2025252118>
- Yamada, K. Kamagata Y., Nakamura K., 1997. *The effect of endosymbiotic methanogens on the growth and metabolic profile of the anaerobic free-living ciliate Trimyema compressum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 149, 129–132.  
[doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10319.x](http://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10319.x)
- Yubuki N., Leander B.S., 2018. *Diversity and evolutionary history of the Symbiontida (Euglenozoa)*. *Front. Ecol. Evol.* 6.  
<https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00100>

Streszczenie graficzne

# SYMBIOZY MIKROORGANIZMÓW

