

Mikroalger i vitenskapelig perspektiv

Av Dag Klaveness

Dag Klaveness er professor ved Biologisk institutt, Universitetet i Oslo. Han arbeider med eukaryote mikroorganismer: deres betydning i de akvatiske miljøer og deres innbyrdes slektskap, evolusjon og klassifikasjon.

Et klassifikasjons-system som omfatter alle levende organismer kan være et hjelpemiddel til å anskueliggjøre evolusjonslinjer og innbyrdes slektskapsforhold. Slike omfattende klassifikasjonssystemer er nødvendige for å kunne fange inn alle de organismer vi idag kaller "mikro-alger". De høyeste klassifikasjonsnivåer (riker, rekker, klasser) skiller de største grupper med fundamentalt forskjellige egenskaper ifra hverandre. Linnaeus (1754) delte fortsatt alle levende organismer kun inn i to "riker": Animalia (dyreriket) og Vegetabilia (planteriket). Da kunnskapene om stadig flere små organismer økte, kom også behovet for en mer detaljert inndeling selv på disse høyeste nivåer (f.eks. Haeckel 1866, Copeland 1938, o.a.). Whittakers forslag (1969) om inndeling av alle levende organismer i hele fem riker representerer egentlig slutten på den klassiske lysmikroskopiske æra innen systematiseringen av biota (og avslutningen av en land vitenskapelig karriere for forfatteren).

Ifølge Whittaker (Fig 1) har et mer avansert rike utviklet seg, riket Protista, fra de enklere kjerneløse (prokaryote) organismene i riket Monera. Med god sans for pedagogisk framstilling lot Whittaker representanter med grønne pigmenter og en plantelignende livsform ("fototrofi") utvikle seg i én retning (her til venstre) som om de alle var nær beslektet, innenfor arealet som representerte riket Protista. Representanter som lever av å bryte ned og ta opp organisk materiale ved hjelp av ekstracellulære enzymer ("osmotrofi") ble samlet imot midten, og protister som kan ta opp og fordøye mikroskopiske partikler viste "dyriske" tendenser ("fagotrofi") utviklet seg imot høyre i figuren. Fra representanter for hver av disse tre grupper av eukaryote mikroorganismer kunne så riker av flercellede organismer ha utviklet seg videre: planter (Planta), sopp (Fungi) og dyr (Animalia). Whittaker's 5-rike-system var logisk bygget opp og med klare og velbegrunnede skillelinjer imellom de tilstøtende riker. Det samme pedago-

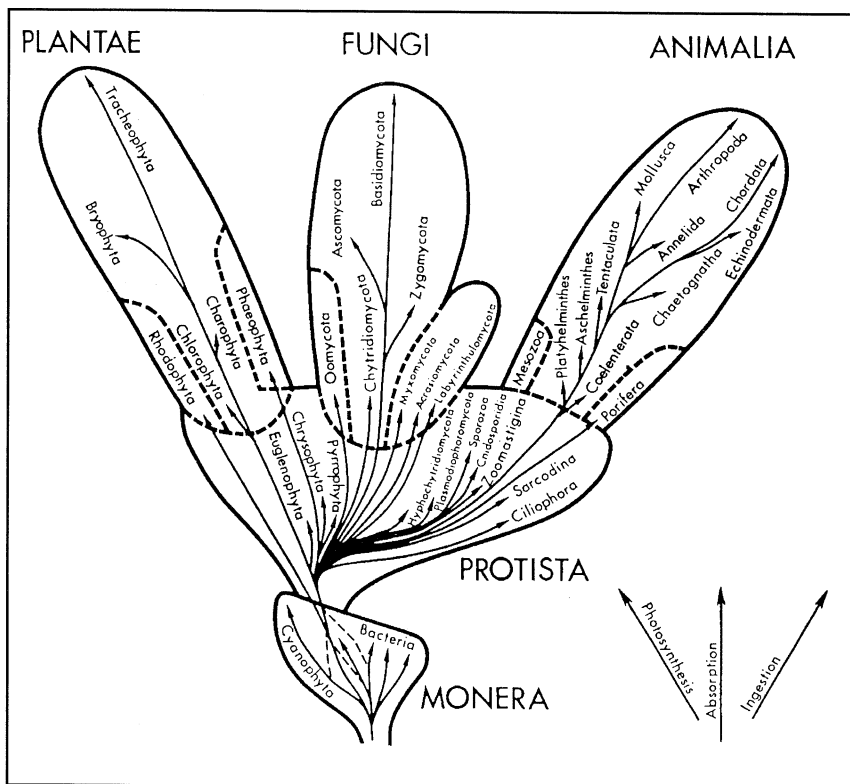


Fig. 1. Whittakers "five-Kingdom system" for inndeling av alle levende organismer (fra Whittaker 1969). De fem riker er "Monera" som omfatter bakterier og blågrønnalger, "Protista" som omfatter protistene, "Plantae" som omfatter de store algene (rødalger, brunalger, grønnalger og kransalger), "Fungi" som omfatter soppene, og "Animalia" som omfatter dyrene. Gjengitt, med tillatelse, fra Science vol. 163 (1969), side 157 fig 3. Copyright: American Association for the Advancement of Science.

giske megaklassifikasjons-system er senere blitt forsøkt ivaretatt av Margulis under litt endrede forutsetninger (f.eks. i boka "Five Kingdoms" som hittil er kommet i tre utgaver - senest 1998).

Det er særlig tre forhold som har endret våre idéer om de eukaryote

organismenes opprinnelse, evolusjon og innbyrdes slaktskapsforhold.

1. Elektronmikroskopet og den omfattende anvendelsen av dette i undersøkelsene av de eukaryote mikroorganismenes, herunder mikroalgenes, finere struktur - fra ca. 1955 og framover (særlig Manton og medarbeidere).

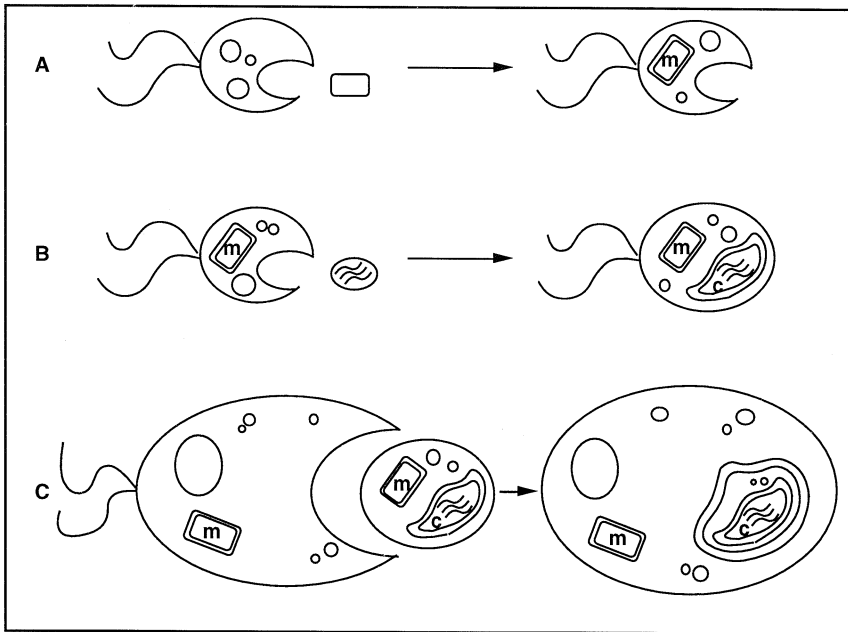


Fig. 2. En forenklet framstilling av endosymbiose-teorien for kloroplastenes opprinnelse. A. Mitokondrienes opprinnelse ved endosymbiose: en fagotrof flagellat innkorporerer en aerob bakterie som endosymbiont. B. Kloroplasters opprinnelse ved primær endosymbiose: en fagotrof flagellat innkorporerer en blågrønnalge-lignende organisme som kloroplast. C. Kloroplasters opprinnelse ved sekundær endosymbiose: en fagotrof flagellat innkorporerer en eukaryot alge som kloroplast (fra Klaveness 1994, med tillatelse fra Blyttia).

2. Gjenopptagelsen og videreføringen av endosymbioseteorien for organellers opprinnelse hos eukaryoter (Fig. 2) - fra 1967 (Sagan 1967, Goksøyr 1967).

3. Sekvensering og sammenligning av utvalgte deler av genomene hos eukaryote mikroorganismer og hos deres organeller - fra ca. 1975 (Zuckerkanndl & Pauling foreslo allerede i 1965 at molekylsekvenser kunne brukes til å rekonstruere evolusjonshistorie).

Idag har også lysmikroskopiske fluorescensmetoder, som immunofluor-

escens, og tredimensjonal rekonstruksjon av bilder (ved hjelp av datateknikk) i laser-scanning konfokal-mikroskopet (et svært avansert lysmikroskop) blitt et nytt og viktig hjelpemiddel for å undersøke de eukaryote mikroorganismenes struktur.

Allerede rundt 1960 forelå det altså flere undersøkelser av mikroalger utført med elektronmikroskop. Sarah Gibbs publiserte en serie fine arbeider over strukturen av og membranene omkring algenes kloroplaster allerede

i 1962 – det strukturelle mangfold var overraskende. Raskt fulgte erkjennelsen av at også mitokondriene var strukturelt forskjellige innenfor grupper av alger (cf. Taylor 1976). Den gamle teorien om at kloroplaster kunne ha vært oppstått som følge av symbiose imellom en partikkel-spisende protist og blågrønnalger (endosymbiose-teorien) ble gjenopplivet og utvidet til også å omfatte andre celle-organeller, herunder den eukaryote cellens kjerne (Goksøyr 1967), mitokondrier og eukaryote cellers flageller (Sagan 1967, Margulis 1981). Taylor introduserte (1974) begrepet "seriell endosymbiose" (SET-teorien) for den eukaryote cellens opprinnelse og evolusjon (Fig. 2).

Når så gen-sekvensering og sammenligning av deler av genomer ble enklere og tilgjengelig for flere laboratorier, ble det også mulig å sammenligne evolusjonsmessig avstand imellom alle organismer. Om de ikke hadde noen klassiske taksonomiske karakterer til felles, så har de i hvert fall ett til felles: den genetiske koden. Og det er nettopp graden av forskjeller imellom utvalgte deler av genomet som kan indikere evolusjonsmessig avstand.

Ut ifra dagens kunnskap er det også mulig å konstruere forenklete visuelle evolusjonsmodeller som Fig. 3. Vi vet nå at alle kloroplaster er oppstått ved opptak av fototrofe celler og påfølgende etablering av symbiose inne i en partikkelspisende protozo, som i dette tilfelle blir en vertscelle. Vertscellenes innbyrdes slektskapsforhold og evolusjon kan rekonstrueres utifra finstruktur og deler av kjernenes genomer. Vi kom-

mer da fram til at noen typer av vertsceller kan ha inngått symbiose med fototrofe prokaryoter (blågrønnalger?) – slike symbioseforhold som da gir opphav til funksjonelle kloroplaster kaller vi primære endosymbioser. Primære endosymbioser forklarer etablering av kloroplastene hos grønnalger og rødalger. Hos disse algegruppene kjenner vi ingen gjenlevende representanter for den fagotrofe vertscellen - de er formodentlig utdødd. Slike protister ville idag kunne ha vært fargeløse søstergrupper til de encellede grønnalgene og til rødalgene, om de hadde overlevet.

Hos andre protozoer er kloroplastene etablert sekundært, dvs. kloroplastene stammer selv ifra en eukaryot mikroalge. Kloroplastene hos *Euglena* er reduserte grønnalger. Kloroplastene hos *Cryptomonas* er reduserte rødalger (der finner vi fortsatt resten av rødalgens kjerne, i form av en "nukleomorf", innenfor to av kloroplastens fire membraner). Kloroplastene hos noen dinoflagellater kan stamme fra grønne eller røde alger.

Verre blir det når fagotrofe mikroorganismer etablerer kloroplaster ved symbiose med mikroalger som selv har sekundære kloroplaster - da blir kloroplastene resultatet av en tertiær symbiose. Dette finner vi hos noen dinoflagellater. Også en ciliat har forsøkt å etablere en kloroplast på denne måten: *Mesodinium* har innkorporert en cryptomonade som "kloroplast", ciliaten lever autotroft (som "plante") men har fortsatt endel av endosymbiontens cytoplasma og noen andre organeller i

Tabell 1.

Klasser av og enkelte spesielle representanter (kursiv) for mikroalger i videste forstand innenfor de 10 riker av alle levende organismer.

Rike	Klasser av alger
(PROCARYOTA) Archebacteria Eubacteria	Cyanophyceae
(EUKARYOTA) Archezoa Euglenozoa Planta	- (ingen alger) Euglenophyceae Prasinophyceae Chlorophyceae Rhodophyceae Cryptophyceae* Glaucophyceae* (=Glaucocystophyceae)
Fungi Animalia Alveolata Protozoa	- (ingen alger) - (ingen alger) Dinophyceae Chlorarachniophyceae, <i>Mesodinium</i> (Ciliophora), <i>Paulinella</i> (Rhizopoda)
Chromista	Chrysophyceae Phaeophyceae Raphidophyceae Xanthophyceae Eustigmatophyceae Haptophyceae* (=Prymnesiophyceae)
* = utypisk for riket/usikker plassering	

behold. Denne ciliaten er i prinsippet en like god "mikroalge" som dino-flagellatene nevnt ovenfor.

Når man med utgangspunkt i vertscellenes finstruktur og deres innbyrdes genetiske slektskap konstruerer en ny evolusjonsmodell (som i Fig. 3), kommer man fram til flere enn fem funda-

mentalt forskjellige grupper. I undervisningssammenheng har jeg valgt å legge vekt på de store strukturelle forskjeller på cellulært nivå, slike forskjeller som også understøttes av genetiske undersøkelser. "10-rike-systemet" nedenfor tar i bruk de vanlige betegnelser på gruppene som gjenfinnes i litteraturen,

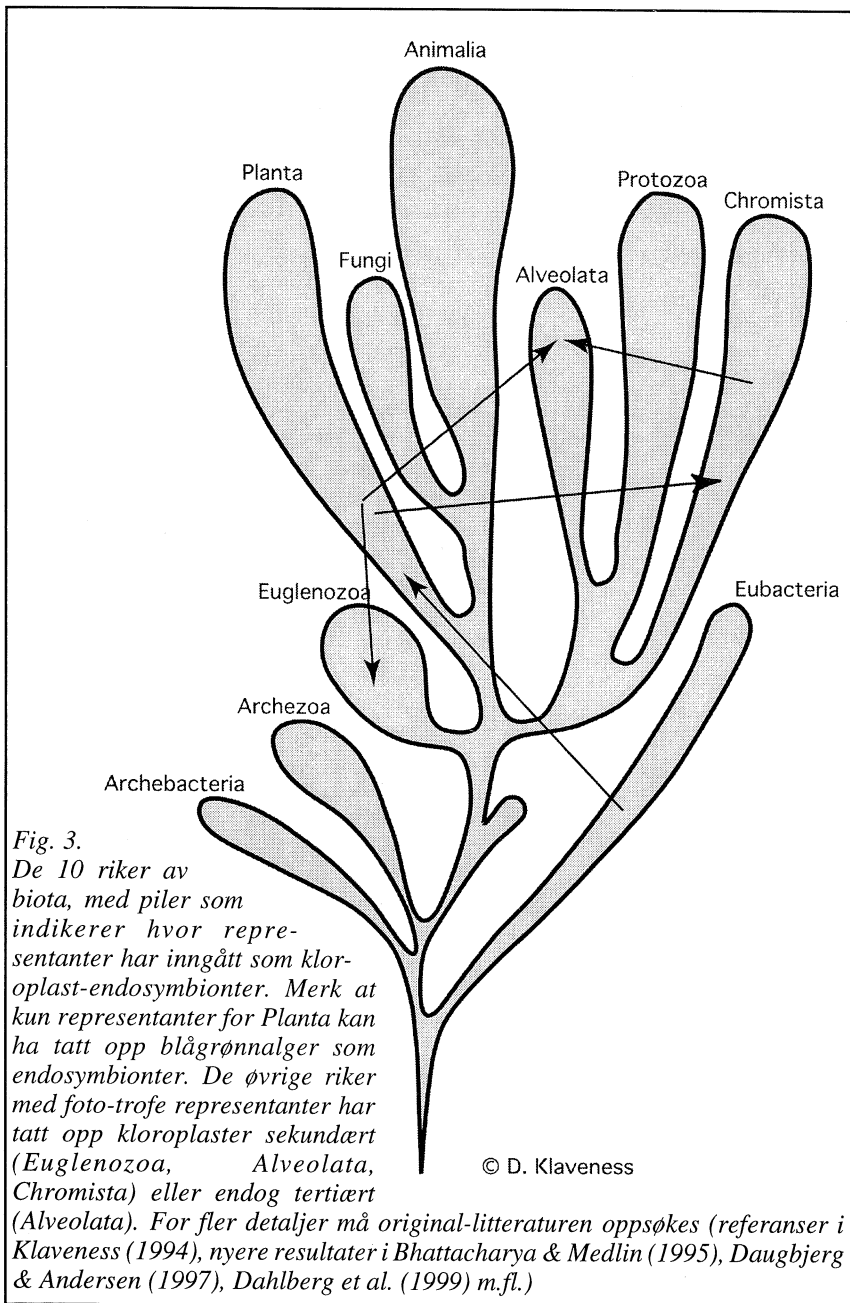


Fig. 3. De 10 riker av biota, med piler som indikerer hvor representanter har inngått som kloroplast-endosymbionter. Merk at kun representanter for *Planta* kan ha tatt opp blågrønnalger som endosymbionter. De øvrige riker med foto-trofe representanter har tatt opp kloroplaster sekundært (*Euglenozoa*, *Alveolata*, *Chromista*) eller endog tertiært (*Alveolata*). For fler detaljer må original-litteraturen oppsøkes (referanser i Klaveness (1994), nyere resultater i Bhattacharya & Medlin (1995), Daugbjerg & Andersen (1997), Dahlberg et al. (1999) m.fl.)

men ikke alle taksonomer er villige til å opphøye alle taxa som her er nevnt til "rike"-nivå. For vår diskusjon er imidlertid "10-rike-systemet" praktisk. Tabell 1 gir en oversikt over de forskjellige riker og algeklasser og enkeltrepresentanter for mikroalger som plasseres innefor hvert rike. Det burde framgått at en plassering av alger etter fotosyntese-pigmentene alene (som tidligere betydde mye for systematikken, men som her ikke blir diskutert) ikke er tilstrekkelig for en klassifikasjon som skal gjenspeile evolusjonens forløp.

Archebacteria og Eubacteria er de to genetisk svært forskjellige riker av prokaryoter. *Blågrønnalgene* (klasse Cyanophyceae) hører til under Eubacteria, sammen med en rekke av våre aller vanligste bakterier. Archebakteriene omfatter noen organismer som idag finnes under ekstreme betingelser: methanbakterier og visse halofile og termofile bakterier (Olsen et al. 1994).

Archezoa er primitive fagotrofe eukaryote protozoer uten mitokondrier eller kloroplaster. De finnes kun i oksygenfattige miljøer, mange er idag parasitter hos Animalia. Ingen av representantene for Archezoa har fanget opp fototrofe pro- eller eukaryoter som kloroplaster.

Euglenozoa omfatter mange fagotrofe protozoer med særskilt oppbygget celledkjellet og oftest to flageller. Noen har tatt opp grønnalge-lignende eukaryoter som endosymbionter (kloroplaster ved sekundær endosymbiose)

og de lever autotroft. Fototrofe representanter for riket har oftest tilbakedannet cellemunnen og kan ikke lenger spise partikler. Eksempler på slike mikroalger er *Euglena* og *Colacium* (klasse Euglenophyceae).

Planta omfatter gjerne de encellede grønnalgene, de mer avanserte og flercellede grønnalger, kransalger, og grupper som kan være utviklet fra slike (moser, karsporeplanter og frøplanter). De fleste taksonomer regner også rødalgene til dette riket, som en fototrof søstergruppe til grønnalgene. Eksempler på interessante mikroalger er *Pyramimonas* (klasse Prasinophyceae), *Dunaliella* og *Haematococcus* (klasse Chlorophyceae), og *Porphyridium* (klasse Rhodophyceae).

Fungi og Animalia har ingen alger blant sine representanter, men noen fra førstnevnte inngår i symbiontisk (ekstracellulært) samarbeid med representanter for blågrønnalger eller grønnalger i form av lav (Lichenes). Noen enkle Animalia (*Hydra*, *Convoluta*) inkluderer *Chlorella* eller *Tetraselmis* som symbionter og drar nytte av grønnalgens fotosynteseprodukter.

Alveolata er karakterisert ved de "cortical alveoli", en finstrukturell diakritisk (synapomorf) karakter som ofte er lett å kjenne igjen i elektronmikroskopet. Riket Alveolata omfatter rekkene Apicomplexa, Ciliophora og Dinoflagellata. Mange representanter for Dinoflagellata har inngått i symbiose med mulige forløpere for rød-

alger, kiselalger, grønne alger, cryptomonader eller haptophyceer, slik at "kloroplastene" hos dinoflagellater har oppstått enten sekundært eller tertiært og er av svært forskjellig karakter. Av dette kan man også forvente at noen fototrofe dinoflagellater kan ha kombinert mange forskjellige egenskaper og interessante biokjemiske synteseveier. Kjente dinoflagellater er slektene *Alexandrium* og *Dinophysis* (klasse Dinophyceae) som begge har representanter som kan produsere giftstoffer - slike kan akkumuleres i blåskjell og gjøre dem uegnet til konsum.

Chromista ("Heterokonta") har særpregede bygningstrekk og flageller, og er det andre planteriket som har lyktes overmåte vel med avanserte flercellede thalli. Men de store representantene mangler stivt støttevev og har følgelig forblitt i havet (brunalgene - klasse Phaeophyceae). Encellede fargeløse fagotrofe former har tidlig inngått i symbiose med en fototrof eukaryot og som må ha utviklet seg til den særpregede kloroplasten. Haptophyceene kan være en søstergruppe til heterokontene, i så fall med tidlig opprinnelse (disse har ikke heterokonte flageller). *Chaetoceros* og *Isochrysis* er representanter for kiselalgene (klasse Bacillariophyceae) og haptophyceene (klasse Haptophyceae = Prymnesiophyceae), henholdsvis.

Protozoa er så blitt en samlegruppe for de protister som ennå ikke har sin naturlige plass i et av de øvrige riker. Protozoa omfatter følgelig en samling

av et mangfold av amøbedyr og fargeløse flagellater, slimsopp m.m. som vanligvis ikke har fototrofe endosymbionter. Unntaket gjelder f.eks. noen skaldannende amøber, som har tatt opp blågrønnalge-lignende endosymbionter (cyaneller) og derved lever fototroft (slekten *Paulinella* med representanter i ferskvann og i havet - disse er idag ofte feilaktig plassert i klassen Glaucocystophyceae). Noen amøber med trådsmale "filopodier" har tatt opp grønnalge-lignende organismer som kloroplaster, disse spesielle algene utgjør idag klassen Chlorarachniophyceae (som helst bør klassifiseres innenfor Protozoa hvis vertscellen, og ikke kloroplasten, legges til grunn for den systematiske inndeling).

Alt i alt omfatter begrepet "mikroalger" svært forskjellige protister fra hele 6 av de 10 riker (Eubacteria (blågrønnalgene!), Euglenozoa, Planta, Alveolata, Chromista og Protozoa), og de eukaryote formene har tatt opp fototrofe representanter fra Eubacteria (blågrønnalger), Planta (grønn- eller rødalger), Chromista (kiselalger, gullalger, haptofytter) eller fra de problematiske cryptomonadene (som fortsatt er vanskelige å plassere). En "avansert" mikroalge, bygget opp ved endosymbioser gjennom flere trinn, kan følgelig kombinere mange egenskaper av stor praktisk betydning for vår utnyttelse av slike.

For de som ønsker å sette seg skikkelig inn i algenes oppbygning og egenskaper, anbefales læreboka til van den Hoek et al. 1995. En god introduksjon

til ferskvannsalger er gitt av Canter-Lund & Lund 1995 – denne boka har et suverent og uovertruffent billedmateriale (mikrofotografier). Den beste introduksjon til protistenes samlede klassifikasjon og systematikk er kanskje Corliss' artikkel fra 1994 - denne gir et godt utgangspunkt for videre studier av protistene som en interessant gruppe - også som opphav til de fleste mikroalgene. For øvrig finnes interessante internett-linker på <http://biologi.uio.no/Avdelinger/Protistologi/default.html>

Referanser:

Bhattacharya, D. & Medlin, L. 1995. The phylogeny of plastids: a review based on comparison of small-subunit ribosomal RNA coding regions. *J. Phycol.* 31, 489-498.

Canter-Lund, H. & Lund, J.W.G. 1995. *Freshwater algae*. Biopress Limited, Bristol BS3 2JX, England. 360 s.

Copeland, H.F. 1938. The kingdoms of organisms. *Q. Rev. Biol.* 13, 383-420.

Corliss, J.O. 1994. An interrim utilitarian ("user-friendly") hierarchical classification and characterization of the protists. *Acta Protozoologica* 33, 1-51.

Dahlberg, O.J., Tengs, T., Shalkian-Tabrizi, K., Delwiche, C., Klaveness, D., Rudi, K. & Jakobsen, K.S. 1999. Dinoflagellate plastids of tertiary origin - the haptophyte connection to 19'-acyloxyfucoxanthin-containing chloroplasts. In prep.

Daugbjerg, N. & Andersen, R.A. 1997. Phylogenetic analyses of the rbcL sequences from haptophytes and heterokont algae suggests their chloroplasts are unrelated. *Mol. Biol. Evol.* 14 (12), 1242-1251.

Goksøyr, J. 1967. Evolution of eucaryotic cells. *Nature* 214, 1161.

Haeckel, E. 1866. *Generelle Morphologie der Organismen*. Raimer, Berlin.

Klaveness, D. 1994. Algenes opprinnelse og tidlige evolusjon. *Blyttia* 52, 167-179.

Linnaeus, C. 1754. *Genera plantarum*. Holmiae.

Margulis, L. 1981. *Symbiosis in cell evolution*. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 419 s.

Margulis, L. & Schwartz, K.V. 1998. *Five Kingdoms: an illustrated guide to the phyla of life on earth*. Freeman, N.Y. 520 s.

Olsen, G.J., Woese, C.R. & Overbeek, R. 1994. The winds of (Evolutionary) change: breathing new life into microbiology. *Journal of Bacteriology* 176 (1), 1-6.

Sagan, L. 1967. On the origin of mitosing cells. *J. Theoret. Biol.* 14, 225-274.

Taylor, F.J.R. 1974. Implications and

extensions of the Serial Endosymbiosis Theory of the origin of eukaryotes. *Taxon* 23, 229-258.

Taylor, F.J.R. 1976. Flagellate phylogeny: a study in conflicts. *J. Protozool.* 23 (1), 28-40.

Van den Hoek, C., Mann, D.G. & Jahns, H.M. 1995. *Algae. An introduction to Phycology.* Cambridge University Press. 623 s.

Whittaker, R.H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. *Science* 163, 150-160.