

ОБЗОРЫ И ДИСКУССИИ

УДК 593.195 : 575.86

© Ю. Я. Соколова

ПРОИСХОЖДЕНИЕ МИКРОСПОРИДИЙ
И ИХ ПОЛОЖЕНИЕ В СИСТЕМЕ ЭУКАРИОТSOKOLOVA Yu. Ya. ORIGIN OF *MICROSPORIDIA* AND THEIR SYSTEMATICAL
POSITION AMONG EUKARYOTES

Microsporidia Balbiani, 1882 — уникальная группа многочисленных одноклеточных эукариотических организмов, представленная исключительно паразитическими формами, заражающими животных самых разных систематических групп. При всем своем многообразии микроспоридии — монофилетическая группа, основным отличительным признаком которой является спора — единственная внеклеточная стадия паразита, оснащенная аппаратом экструзии — уникальным набором органелл, позволяющим эффективно заражать клетки-мишени и давать начало внутриклеточной пролиферативной части жизненного цикла (рис. 1).

Микроспоридиологическую летопись принято вести с описания микроскопического возбудителя пембины тутового шелкопряда, грозившего уничтожить шелководство в Южной Европе в начале XIX в.¹ Паразит был описан как *Nosema bombycis* Nägeli в 1857 г. и отнесен к Schizomycetes (Sprague, 1977; по: Becknel, Andreadis, 1999). Этот факт сегодня звучит иронично. Микроспоридиям понадобилось полтора века, чтобы, побывав в качестве семейства отряда Мухоспоридия (Thelohan, 1892; по: Исси, 1986), отряда или подкласса в составе типа Sporozoa (Labbe, 1899; Kudo, 1924), таксона, равного ранга с микоспоридиями и актиномиксидиями, в составе класса Cnidosporidia (Kudo, 1966), независимого типа в составе царства Protozoa (Levine et al., 1980), а затем Archezoa (Cavalier-Smith, 1993), найти свое место на древе жизни в качестве ближайших родственников грибов (Adl et al., 2005; James et al., 2006).

Ранг группы и положение микроспоридий в системе эукариот неоднократно менялись в ходе их изучения и всегда вызывали дискуссии. Мы не будем здесь останавливаться на этом вопросе, так как он подробно рассмотрен в нескольких публикациях (Sprague, 1977; Исси, 1986; Sprague et al., 1992; Keeling, Fast, 2002). Примечательно, что еще в 1990-х годах микроспоридий относили к Archezoa — сборному супертаксону низших эукариот, объединяющему амитохондриальных простейших, якобы отделившихся от эукариотического ствола до приобретения клеткой митохондрий (Cavalier-Smith, 1983, 1993; Vossbrinck et al., 1987; Corliss, 1994). В пользу первичной «примитивности» и принадлежности микроспоридий к Archezoa² говорили следующие характеристики: 1) упрощенное строение вегетативных

¹ Самая ранняя находка микроспоридии относится к 1838 г., когда был открыт неизвестный микроорганизм из рыб, позднее, в 1887 г., описанный в честь автора находки как *Glugea anomalia* Moniez (по: Becknel, Andreadis, 1999).

² К супертаксону Archezoa (Cavalier-Smith, 1983) были отнесены следующие группы протист: диплонады (*Giardia*), трихомонады (*Trichomonas*), микроспоридии (*Nosema*), энтамебы (*Entamoeba*) и пелобинты (*Naegleria*, *Valkhampia*); в скобках приведены типичные представители протист.

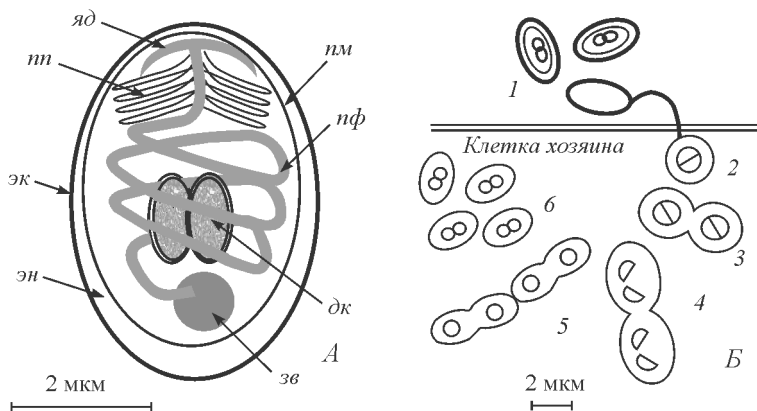


Рис. 1. Схемы споры (А) и жизненного цикла (Б) микроспоридий.

А: дк – диплокарин (парные ядра); nt – полярпласт; nm – плазматическая мембрана; нф – полярная трубка, или филламент; зв – задняя вакуоль; эн – эндоспора; эк – экзоспора; яд – якорный диск. Б: 1 – споры; 2–6 – внутриклеточные стадии жизненного цикла, который может содержать исключительно одноядерные или исключительно двуядерные (диплокариотические) формы, а также включать в себя смену ядерных фаз, как это изображено на рисунке.

стадий микроспоридий, в частности закрытый тип митоза, отсутствие митохондрий и пероксисом, диктиосом аппарата Гольджи, 9 + 2 микротубулярных структур и запаасающих гранул; 2) рибосомы «прокариотного типа» (70S в отличие от 80S у большинства эукариот) с коэффициентом седиментации малой рибосомальной субъединицы 16S, как у прокариот, а не 18S, как у эукариот; 3) структура рибосомального РНК оперона, в котором 5.8S рРНК ковалентно связана с 23S рРНК, как у прокариот, в отличие от других эукариот, у которых эти участки рРНК представлены отдельными молекулами (Vossbrinck, Woese, 1986); 4) отсутствие у микроспоридий интронов, которые по гипотезе Кавалье-Смита (Cavalier-Smith, 1991) были привнесены в геном эукариотической клетки премитохондриальными эндосимбионтами, и системы сплайсинга; 5) первые филогенетические построения, основанные на анализе сиквенсов гена малой субъединицы рибосомальной РНК (Vossbrinck et al., 1987), факторов элонгации трансляции 1α и 2 (Kamaishi et al., 1996a, 1996b) и гена изолейцин РНК синтетазы (Brown, Doolittle, 1995), которые указывали на базальное положение микроспоридий на древе эукариот.

Следует отметить, что «архезоидная» природа микроспоридий неоднократно подвергалась сомнению самими же авторами «архезоидной гипотезы» (Cavalier-Smith, 1993b), поскольку упрощенность строения вегетативной клетки микроспоридий, как и других групп Archezoa, большинство из которых представлены паразитическими формами, могла быть связана с приспособлениями к внутриклеточному паразитизму, а сложное строение спор микроспоридий (Vavra, Larsson, 1999) невозможно было назвать примитивным. Именно перемещение микроспоридий от основания филогенетического древа (Vossbrinck et al., 1987) к его вершине (Keeling, Fast, 2002) стало первым сокрушительным ударом по «архезоидной гипотезе», которая оказалась несостоятельной и в отношении других групп Archezoa (Dacks, Doolittle, 2001), но при этом необычайно плодотворной с точки зрения прогресса в изучении эволюционных связей низших эукариот.

Раскрытый недавно характер редуцированной эволюции генома микроспоридий, характеризующейся необычайно высокой частотой мутаций и направленной на компактизацию генома за счет делеций нетранслируемых участков, выпадения кластеров нефункциональных генов и укорочения функциональных генов (Keeling, Slamovits, 2004; Slamovits et al., 2004; Cavalier-Smith, 2005; Williams et al., 2005; Corradi et al., 2007), объясняет происхождение уникальной структуры рибосом и РНК микроспоридий и позволяет считать конвергентным сходство с бактериями по этим признакам (Keeling et al., 2005). В частности, считается, что одна из делеций затронула сайт про-

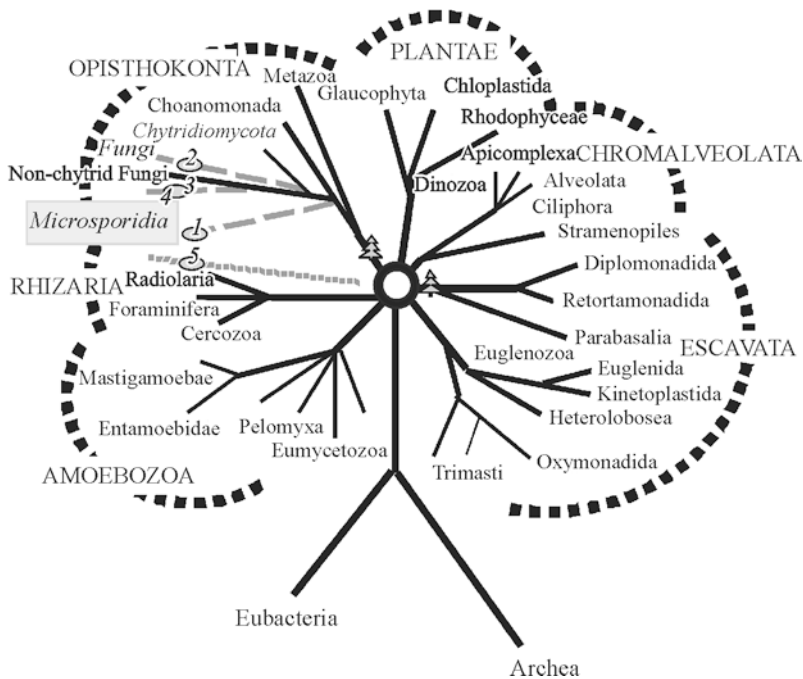


Рис. 2. Схема древа жизни (по: Adl et al., 2005) отражает господствующую концепцию монофилетического происхождения клетки эукариот от прокариот, а также наиболее общепринятое представление о дивергенции основных групп (супертаксонов).

«Елочки» обозначают предположительные позиции корня. Положение микроспоридий на древе окончательно не определено. Большинство исследователей относят *Microsporidia* к супертаксону Opisthokonta, объединяющему царства грибов, животных и хоанофлагеллят. В настоящее время четыре гипотетические позиции микроспоридий представляются наиболее вероятными: 1) сестринская группа по отношению к *Fungi* в целом; 2) сестринская группа по отношению к *Chytridiomycota*; 3) группа *Zygomycota*; 4) сестринская группа по отношению к высшим грибам *Dikarya* (*Ascomycota* + *Basidiomycota*). Ряд фактов свидетельствует в пользу независимого происхождения микроспоридий и базальной позиции группы на древе (5), однако эта топология имеет слабую статистическую поддержку в репрезентативных мультигенных филогенетических построениях.

цессинга оперона рибосомальной РНК, что вызвало слияние большой и малой субъединиц (Cavalier-Smith, 1993; Keeling, Fast, 2002).

Усовершенствование алгоритмов и уточнение параметров филогенетического анализа выявило ошибки в ранних филогенетических построениях (Arisue et al., 2005; Fischer, Palmer, 2005). Наиболее типичная расчетная ошибка, характерная для ранних филогенетических построений, «артефакт взаимного притяжения длинных ветвей» (long-branch attraction artifact) (Felsenstein, 1978; Philippe, Laurent, 1998; Philippe et al., 2000), была основана на ложном предположении, что один и тот же ген в разных организмах эволюирует с одинаковой скоростью.³ Классическим примером такой ошибки оказалось заключение о древности происхождения микроспоридий на основании сравнительного филогенетического анализа сиквенов генов малой субъединицы РНК и фактора элонгации транскрипции 2. Эти гены характеризуются повышенной скоростью дивергенции, что зачастую приводит к неправильной оценке позиций таксонов старших рангов (отряды и выше) в филогенетических построениях (Liu et al., 2006).

³ В филогенетических построениях быстро эволюирующие сиквены («длинные ветви», к которым относятся гены рибосомальной РНК и фактора элонгации трансляции) искусственно группируются друг с другом и с истинно древними последовательностями, в частности с последовательностями Eubacteria и Archea, которые обычно выбираются в качестве «внешних групп» (outgroups) при реконструкциях макросистемы эукариот.

Предположения о наличии общего предка у грибов и микроспоридий высказывались неоднократно (Исси, 1986). Однако первые филогенетические построения, основанные на молекулярных данных, которые опровергали базальное положение микроспоридий и группировали их с грибами, основывались на анализе сиквенсов генов α - и β -тубулинов (Edlind et al., 1996; Keeling, Doolittle, 1996; Keeling, Fast, 2002). Учитывая, что гены тубулинов значительно быстрее эволюируют в таксонах, лишенных 9 + 2 структур (например, в нехитридиевых грибах и микроспоридах), сближение этих двух групп могло быть связано также с артефактом взаимного притяжения длинных ветвей. Однако при исключении нехитридиевых грибов из анализа микроспоридии все равно объединялись с хитридиевыми грибами (Keeling, Doolittle, 1996). Результаты «тубулиновых» филогенетических построений немедленно привели к переоценке других характеристик микроспоридий. Например, у микроспоридий давно были отмечены похожие на грибные черты организации ядра, митоза и мейоза (Исси, 1986; Flegel, Pasharawipas, 1995). Также наличие инсерции в гене фактора элонгации транскрипции 1 альфа сближает микроспоридий с Opisthokonta (*Fungi* + Metazoa + Choanoflagellata) (Keeling, McFadden, 1998), несмотря на то что в филогенетических построениях на основании этого гена микроспоридии занимают базальную позицию по отношению ко всем Eukarya (Kamaishi et al., 1996a, 1996b).

С помощью более совершенных алгоритмов анализа, позволяющих минимизировать влияние «длинных ветвей», принадлежность *Microsporidia* и *Fungi* к одному кладу была показана с помощью филогенетических построений на основе сиквенсов различных генов (см. таблицу), включая гены малой и большой субъединиц рРНК, и факторов элонгации трансляции (Fischer, Palmer, 2005). Результаты анализа *Encephalitozoon cuniculi*, первого и пока единственного полностью расшифрованного микроспорициального генома (Katinka et al., 2001; Keeling, 2001), а также частично отсеквенированных геномов *Paranosema locustae* (jbpc.mbl.edu/Nosema/index.html) и *Spraguea lophii* (jbpc.mbl.edu/Spraguea-HTML) позволили выявить у них значительное число генов, сходных с грибными.

Наиболее сильным аргументом против предположения о первичном отсутствии митохондрий в клетках микроспориций стало выявление генов митохондриальных белков шаперонов mtHSP70 и пируватдегидрогеназы в геномах *Nosema locustae* (Germot et al., 1997) и *Vairimorpha necatrix* (Hirt et al., 1997), а позже — генов целой серии митохондриальных белков в геномах этих и других микроспориций (Katinka et al., 2001; Arisue et al., 2002; Williams, Keeling, 2005; Burri et al., 2006). Характерно, что некоторые из этих генов демонстрировали наибольшую гомологию с генами митохондриальных белков *Saccharomyces cerevisiae*. Таким образом, факты неопровержимо указывали на наличие митохондрий у предков микроспориций и на вторичную утрату этих органелл в связи с паразитическим образом жизни. Более того, рудиментарные митохондрии (митосомы) были обнаружены в вегетативных стадиях *Trachipleistophora hominis* методом электронной микроскопии, сопряженной с иммуноцитохимической локализацией mtHSP70 (Williams et al., 2002).

В геномах представителей микроспориций (Biderre et al., 1998; Fast et al., 1998), как и в других архезойных таксонах, выявлены и интроны, и гены факторов сплайсинга (Fast, Doolittle, 1999; Dacks, Doolittle, 2001). Также получены доказательства наличия функционально активных пероксисом в *Spraguea lophii* (Weidner, Findley, 2002, 2003; Findley et al., 2005).

Кроме того, следует считать доказанным, что аппарат Гольджи в явном или скрытом виде имеется в клетках всех современных эукариот, включая микроспориций (Beznoussenko et al., 2007), а его морфологическая организация подвержена значительным модификациям, связанным со специфическими функциями (Dacks et al., 2003; Соколова и др., 2007; Sokolova, Mironov, 2008).

В настоящий момент принадлежность микроспориций к «кроне» филогенетического древа и родство микроспориций и грибов не вызывают сомнения у большинства исследователей. Аргументы в поддержку этих положений можно суммировать следующим образом. 1) Metazoa, грибы и микроспориции имеют сходную структуру генов

Основные гипотезы о положении микроспоридий на древе эукариот, предложенные в зависимости от использованных генов-маркеров филогенетического родства

Гены	<i>Microsporidia</i> — сестринская группа по отношению к Opisthokonta/ <i>Eukarya</i> в целом	<i>Microsporidia</i> — сестринская группа по отношению к царству <i>Fungi</i>	<i>Microsporidia</i> принадлежит царству <i>Fungi</i>
α - and β -tubulins			Edlind et al., 1996; Keeling, Doolittle, 1996; Keeling et al., 2000; Keeling, 2003
EF 1 α	Kamaishi et al., 1996a; Tanabe et al., 2002	James et al., 2006; Liu et al., 2006	Gill, Fast, 2006; James et al., 2006
EF 1 γ	Kamaishi et al., 1996b		
EF 2	То же		
Gln-tRNA synthetase	Brown, Doolittle, 1999		
Glu-tRNA-synt			Brown, Doolittle, 1999
Ile-tRNA trans	Brown, Doolittle, 1995, 1999		
LSU rRNA	Peyretailade et al., 1998a	Peyretailade et al., 1998a	Van de Peer et al., 2000
mtHSP70	Hirt et al., 1997; Peyretailade et al., 1998b	Peyretailade et al., 1998b	Germot et al., 1997; Hirt et al., 1997; Williams, Keeling, 2005
mtPDH- α and β		Fast, Keeling, 2001; Gill, Fast, 2006	Gill, Fast, 2006
Proteosome α	Bouzat et al., 2000		
RPB1, 2	Tanabe et al., 2002	Gill, Fast, 2006; James et al., 2006; Liu et al., 2006	Hirt et al., 1999; Gill, Fast, 2006; James et al., 2006
SSU rRNA	Vossbrinck et al., 1987		Fisher, Palmer, 2005
TBP		Gill, Fast, 2006	Fast et al., 1999; Gill, Fast, 2006

Примечание. α - and β -tubulins — альфа и бета тубулины; EF 1 α — фактор элонгации трансляции 1 альфа; EF 1 γ — фактор элонгации трансляции 1 гамма; EF 2 — фактор элонгации трансляции 2; Gln-tRNA synthetase — глутаминил тРНК синтетазы; Glu-tRNA-synt — глутамил тРНК синтетазы; Ile-tRNA trans — изолейцил тРНК синтетазы; LSU rRNA — большая субъединица рРНК; mtHSP70 — митохондриальный хитшоковый протеин HSP70; mtPDH- α and β — митохондриальная пируватдегидрогеназа, альфа и бета; proteosome α — белки семейства протеосом альфа; RPB1, 2 — рРНК-полимераза II, большая (1) и малая (2) субъединицы; SSU rRNA — малая субъединица рРНК; TBP — TATA-бокс-связывающий протеин.

Наибольшую статистическую поддержку в филогенетических построениях, располагающих *Microsporidia* внутри царства *Fungi*, имеют три позиции: 1) группа, относящаяся к *Zygomycota* (Keeling, 2003); 2) базальная ветвь *Chytridiomycota* (James et al., 2006); 3) сестринская группа по отношению к *Dikarya* (*Basidiomycota* + *Ascomycota*) (Gill, Fast, 2006).

факторов элонгации EF 1 и 2, отличающуюся от таковой в других группах эукариот. 2) Только Metazoa, грибы и микроспоридии кодируют тимидин синтазу и редуктазу дегидрофолиевой кислоты двумя генами, в то время как растения и все изученные представители простейших имеют только один ген, с которого транслируются оба белка. 3) Хитин в оболочке спор и трегалоза как основное запасное вещество помимо микроспоридий встречается только у грибов. 4) Клетки микроспоридий и грибов похожи цитологически. Для представителей обеих групп характерно наличие дикарио-

нов, сходный характер митоза и мейоза, деление ядер без диссоциации ядерной мембраны (закрытый внутриядерный плевромитоз) и встроенные в ядерную мембрану центры организации микротрубочек (spindle plaques), а также аппарат Гольджи в виде тубуловезикулярных кластеров. 5) Фундаментальные молекулярные механизмы 5'-кэппинга матричной РНК в ходе транскрипции сходны у грибов и микроспоридий (Hausmann et al., 2002). 6) Филогенетический анализ нескольких генов-маркеров эволюционного родства позволяет поместить микроспоридии в один супертаксон с грибами (см. таблицу).

Таким образом, к началу XXI в. стало очевидным, что микроспоридии невозможно считать базальной и архаичной группой эукариот, и некоторые молекулярные биологи стали рассматривать микроспоридии как эволюционно молодую группу грибов, родственную дрожжам, специализированную к внутриклеточному паразитизму, аналогичную *Pneumocystis carinii* (Van de Peer et al., 2000).⁴ Вид *P. carinii* относили к Protozoa до 1988 г., когда с помощью молекулярной филогении была доказана принадлежность этого опасного патогена человека к аскомицетам (Edman et al., 1988). Несомненно, филогенетические судьбы микроспоридий и *Pneumocystis* похожи. Они говорят о том, что адаптации к паразитизму способны изменять до неузнаваемости признаки родственных связей как на морфологическом, так и на молекулярном уровне. Существенное различие между двумя группами состоит в том, что род *Pneumocystis* — небольшая группа высших грибов из отдела *Ascomycota*, специализированных к паразитизму в теплокровных. Для эволюции аскомицетов характерны неоднократные переходы от автотрофности к паразитизму, и *Pneumocystis* представляет собой один из наиболее ярких примеров крайней адаптации к паразитизму. Микроспоридии же — тип протист, представленный исключительно паразитическими формами. Многочисленные (более 1200 видов и 170 родов) представители этого типа паразитируют почти во всех таксонах Bilateria, гидрах, в Mixozoa и в более чем 40 видах Alveolata, инфузориях и грегарирах (Canning, Vavra, 2000), что само по себе говорит о достаточном древнем происхождении микроспоридий (Исси, 1986).

Для большинства исследователей, принимающих гипотезу родства микроспоридий с грибами, остается неясным, образуют ли *Microsporidia* сестринскую группу по отношению ко всему царству *Fungi*, т. е. обе группы имеют общего предка, но самостоятельный путь развития, или же *Microsporidia* принадлежат царству *Fungi*, т. е. сформировались как обособленный таксон низших грибов уже после дивергенции грибной ветви от эукариотического древа. В пользу последнего предположения, по мнению этих авторов, свидетельствуют некоторые уникальные для грибов и микроспоридий морфологические признаки. Так, наличие дикарионов у некоторых видов сближает микроспоридии с *Dikarya* (*Basidiomycota* + *Ascomycota*).

Механизм выстреливания микроспоридиями полярной трубки напоминает быстрое «прорастание» покоящихся спор, наблюдаемое у представителей рода *Conidiobolus* (*Zygomycota*, *Entomophthorales*), которое, как и у микроспоридий, включает выворачивание мембранных структур и запускается изменением осмотического давления (Ingold, 1972; Keohane, Weiss, 1999). К тому же подавляющее большинство видов как энтомофторовых грибов, так и микроспоридий — паразиты членистоногих. Кавалье-Смит (Cavalier-Smith, 2001a) рассматривал другую группу паразитических зигомицетов — *Harpellales* (*Zygomycota*, *Trichomycetes*) в качестве возможных предков микроспоридий на основании сходства морфологии полярной трубки микроспоридий и придатков трихоспор (Benjamin, 1979), а также учитывая сходные экологические адаптации.⁵ И все же, несмотря на некоторые аналогии, следует признать, что структура споры микроспоридий и механизм дисперсии уникальны и не имеют аналогов ни среди грибов, ни среди других групп эукариот и не могут служить

⁴ Причиной такого «перегиба» было отсутствие сиквенсов представителей зигомицетов и хитридиомицетов в большинстве филогенетических анализов, опубликованных в 1998—2002 гг., и, как следствие, — ошибочная группировка микроспоридий с дрожжами (Tanabe, 2002).

⁵ Харпелиевые трихомицеты — облигатные полостные паразиты артропод и многоножек.

основанием для включения микроспоридий ни в один из существующих таксонов грибов.

Филогенетические построения, основанные на молекулярных данных, полученных при анализе сиквенсов разных генов, противоречивы (см. таблицу). Некоторые из них, базирующиеся на сиквенсах генов HSP70 и митохондриальных пептидаз (Keeling, Fast, 2002; Williams, Keeling, 2005), помещали микроспоридии как сестринскую группу дрожжей (*Ascomycota*). Однако разрешающая способность этих анализов была низкой из-за недостаточного количества изученных таксонов грибов, а статистическая поддержка кластера, объединяющего микроспоридии и дрожжи, явно была недостаточной. Альтернативной позицией микроспоридий в этом же исследовании было их расположение в основании кроны эукариотического древа (Williams, Keeling, 2005).

Сравнительный филогенетический анализ генов α - и β -тубулинов указывает на родственные отношения микроспоридий с зигомицетами и отвергает их родство с *Dikarya* и *Trichomyces* (Keeling, 2003). В построениях, основанных на анализе тубулинов, микроспоридии группируются с представителями *Entomophthorales* или *Zoopagales*, большинство из которых — симбионты других грибов или беспозвоночных (Tanabe et al., 2000). Однако выводы об эволюционном родстве групп на основании сходства тубулинов и их генов ненадежны, так как известно, что тубулины подвержены конвергентным изменениям, и их макромолекулярные свойства, отраженные в аминокислотных последовательностях, играют важную роль в определении формы клетки — признака высоковариабельного и адаптивного у низших грибов. Таким образом, весьма вероятно, что сродство между тубулинами двух групп связано со сходными ответными реакциями клетки на условия существования. Кроме того, как уже говорилось, гены тубулинов характеризуются неравномерными темпами эволюции, особенно в группах, лишенных жгутикоподобных (9 + 2) структур.

Топологии эволюционных деревьев зависят от используемых генов-маркеров филогенетического родства. В большинстве случаев желательно или даже необходимо использование нескольких генов для более надежной оценки взаимоотношений между таксонами. Гены РНК оперона и факторов элонгации трансляции, как и гены тубулинов, не самый хороший выбор для установления родственных связей микроспоридий с другими организмами из-за насыщенности мутациями и относительно высокой изменчивости, что затрудняет их корректное сравнение с аналогичными генами других организмов (Hirt et al., 1999; Roger, 1999; Tanabe et al., 2002). В настоящее время наиболее подходящим «эволюционным маркером» для грибов считаются гены двух субъединиц ДНК-зависимой РНК полимеразы 2 (RPB), характеризующиеся низкой частотой мутаций. Эти гены присутствуют в клетках всех эукариот и обеспечивают универсальный механизм транскрипции (Tanabe et al., 2002; James et al., 2006; Liu et al., 2006). Сравнительный филогенетический анализ гена большой субъединицы RPB, включающий сиквенсы двух видов микроспоридий, двух видов грибов (*Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*) и одиннадцати представителей других типов эукариот, сгруппировал микроспоридии с грибами, добавив аргумент в пользу заключения о «позднем» происхождении микроспоридий (Hirt et al., 1999). Серьезнейший недостаток этого анализа, как и большинства других, доказывающих якобы «позднее» происхождение микроспоридий, — отсутствие достаточного для сравнения числа таксонов низших грибов.

Характерно, что чем большее количество сиквенсов низших грибов включалось в анализ, тем более базальным оказывалось положение микроспоридий. Например, включение сиквенсов RPB, принадлежащих 17 представителям *Zygomycota* и *Chytridiomycota*, в филогенетический анализ снизило статистическую поддержку группировки микроспоридий с грибами приблизительно с 0.9 (Hirt et al., 1999) до 0.6 (Tanabe et al., 2002). В проведенном Танабе и соавторами (Tanabe et al., 2002) анализе более достоверной оказалась группировка микроспоридий с животными (Metazoa) и базальная позиция по отношению к грибам. Также было выявлено отсутствие характерной для всех грибов делеции двух аминокислот в микроспорициальном гене фактора

элонгации трансляции EF 1, что, по мнению авторов (Tanabe et al., 2002), ставит под сомнение близкое родство микроспоридий с грибами.

Увеличение количества сравниваемых генов и включение в анализ большего числа таксонов позволило значительно повысить разрешающую способность и надежность филогенетического анализа. Мультигенные филогенетические построения подтвердили принадлежность микроспоридий к «кроне» и их родственные отношения с грибами, но не разрешили окончательно вопрос о положении микроспоридий в системе в целом. Неожиданной оказалась группировка микроспоридий с *Chytridiomycota* в филогенетическом анализе шести генов 199 представителей различных таксонов грибов и двух видов микроспоридий (James et al., 2006). В результате этого анализа микроспоридии были помещены в один кластер с наиболее базальным представителем типа *Chytridiomycota* — внутриклеточным паразитом хитридиевых грибов — *Rozella allomyces*, как считается, самым примитивным из ныне живущих представителей царства *Fungi* (Bruns, 2006). Хитридиевые — базальная и обособленная ветвь низших грибов, отмеченная анцестральным признаком — присутствием в жизненном цикле жгутиковых зооспор. Предками остальных групп современных грибов зооспоры были утрачены в процессе приспособления к наземному образу жизни (Cavalier-Smith, 2001b). На основании сравнения сиквенсов нескольких генов Джеймс и соавторы (James et al., 2006) делают выводы о парафилетичности хитридиевых грибов, объединенных, по их мнению, лишь на основании наличия анцестральных признаков, и о как минимум четырехкратной потере жгутика в процессе эволюции.⁶ Авторы предполагают, что микроспоридии произошли от эндопаразитического предка одной из групп хитридиевых, подобного *Rozella allomyces*, и представляют собой наиболее рано отделившуюся ветвь филогенетического древа грибов (Bruns, 2006; James et al., 2006). На наш взгляд, не следует переоценивать значение группировки сиквенсов микроспоридий и *R. allomyces* на филогенетическом древе и на этом основании делать вывод о принадлежности микроспоридий к грибам (Hibbett et al., 2007), тем более что клад микроспоридий — *R. allomyces* поддерживается только при сравнении гена одной субъединицы РНК полимеразы 2, но не остальных генов (двух генов рРНК оперона и гена фактора элонгации трансляции), взятых для анализа. Кроме того, статистическая поддержка этого клада невысокая. Объединение неродственных сиквенсов в филогениях может происходить из-за артефакта притяжения сильно измененных генов, каковыми обычно являются сиквенсы внутриклеточных паразитов, а также вследствие недостаточного представительства таксонов низших грибов, многие из которых могут быть неизвестны науке (Tanabe et al., 2004; Bruns, 2006). Кроме того, филогенетический анализ, представленный Джеймсом и соавторами (James et al. 2006), не исключает базального положения микроспоридий по отношению ко всему царству *Fungi*, положения в качестве сестринской группы в отношении *Dikarya*, а также возможной принадлежности к *Entomophthorales* (*Zygomycota*). В то же время этот анализ отвергает другие позиции группы, предложенные ранее, в частности базальное положение по отношению к *Opisthokonta* и *Eucaryota* в целом.

Характерно, что сходное исследование, включающее анализ генов двух субъединиц РРВ, с высокой статистической поддержкой указывает на позицию микроспоридий как сестринской группы по отношению к царству грибов, отвергая все другие позиции (Liu et al., 2006). Авторы не включают в анализ сиквенс *R. allomyces*. В отличие от всех предыдущих работ, в которых группировки микроспоридии с другими таксонами были слабо поддержаны статистически, в этом исследовании суперклад грибы—микроспоридии обеспечен максимальной поддержкой (100 Bayesian posterior probability и 99 maximum likelihood bootstraps).

Анализ протеома микроспоридий ограничен пока аннотацией самого маленького среди эукариот (2.9 МВ) и, возможно, нетипичного генома *Encephalitozoon cuniculi*, а также небольших фрагментов геномов *Paranosema locustae*, *Spraguea lophii* и *Vitta-*

⁶ Существуют не менее убедительные доказательства однократной потери жгутика и монофилетичности зооспоровых грибов (Liu et al., 2006), поэтому данный вопрос остается открытым.

forma corneae. Этот анализ, с одной стороны, подтвердил, что значительное количество микроспориальных белков и белковых кластеров гомологичны грибным, а с другой — выявил несколько существенных различий, ставящих под сомнение их родство с грибами и свидетельствующих, скорее, в пользу «древнего» (базального) положения микроспориид. Наиболее яркий пример — наличие у микроспориид немитохондриальной АТФ-транспортирующей АТФ/АДФ транслоказы, которая также выявлена в растительных хлоропластах и внутриклеточных бактериях (*Rickettsia*, *Chlamydiaeae*). Предполагается, что микроспорииды и растения могли приобрести этот ген независимо, в результате горизонтального переноса генов (Koonin et al., 2004). Эта альтернативная точка зрения основана на филогенетическом анализе, который подтверждает очень древнее происхождение митохондриальных и немитохондриальных транслоказ (Amiri et al., 2003). Согласно этой точке зрения, ген переносчика присутствовал в бактериальных предшественниках митохондрий и *Rickettsia*, а затем переместился в ядерный геном «проэукариотической» клетки. Во многих группах эукариот этот ген был постепенно утерян. Он сохранился только в растениях, где обеспечивал функцию транспорта АТФ из цитозоля в пластиды, и в микроспоридах для транспорта АТФ из клеток хозяина в свои клетки. Другой фермент столь же древнего происхождения, отсутствующий у грибов, но функционирующий у микроспориид, — 3-метил-аденин ДНК гликозилаза (гликозилирует связи между аденином и дезоксирибозой в процессе удаления поврежденных нуклеотидов). Кроме того, экспрессия в спорах *Paranosema locustae* фосфолиазы класса II (метазойного типа), фермента, участвующего в репарации ДНК, поврежденной ультрафиолетом (Keeling, Slamovits, 2004), и цитоплазматической (непероксисомальной) каталазы протеобактериального типа (Fast et al., 2003) также не вполне согласуется с представлением о «грибных» корнях микроспориид. Сторонники «грибных связей» обычно объясняют наличие этих и других «негрибных» генов и белков латеральным переносом генов и аргументируют эту точку зрения присутствием гена обратной транскриптазы в геномах *Encephalitozoon cuniculi*, *Spraguea lophii* и *Paranosema locustae*. Однако только будущие исследования покажут, насколько значительную роль играл латеральный перенос генов в формировании геномов микроспориид.

Таким образом, можно констатировать, что точное положение микроспориид в системе эукариот остается неопределенным, их принадлежность к царству *Fungi* — спорной. С достаточной долей вероятности можно говорить лишь о принадлежности микроспориид к супертаксону Opisthokonta, объединяющему царства грибов, животных и хоанофлагеллят (James et al., 2006; Liu et al., 2006). Предполагается, что потеря подвижных спор, произошедшая независимо как минимум в четырех группах грибов (предках *Rozella*, *Olpidium*, *Blastocladiomycota* и собственно хитрид) и в микроспоридах, сопровождалась появлением новых механизмов распространения, в частности с помощью воздушной дисперсии спор и/или роста гиф (Bruns, 2006; James et al., 2006; Liu et al., 2006; Hibbett et al., 2007). Механизм экстрезии зародыша спорами микроспориид мог сформироваться как альтернативный способ дисперсии в одной из предковых групп, давшей начало микроспоридам, и помог ей освоить нишу внутриклеточного паразитизма. Исчезновение жгутика во всех этих группах сопровождалось потерей центриоли и возникновением встроенного в ядерную оболочку центра организации микротрубочек.

Наличие родственных связей с грибами никак не противоречит гипотезе о древнем происхождении микроспориид, вопреки довольно популярному среди молекулярных биологов взгляду на микроспорииды как на деградировавших потомков аскомицетов (Keeling, McFadden, 1998; Hirt et al., 1999; Van de Peer et al., 2000). Однако родство микроспориид с последними решительно не подтвердилось позднейшими филогенетическими исследованиями (James et al., 2006; Liu et al., 2006). В настоящее время обсуждаются главным образом возможные связи между микроспоридами и предками низших грибов (*Zygomycota* и *Chytridiomycota*) или дихотомия с *Dikarya* в целом (Gill, Fast, 2006). Грибы — одна из наиболее древних и разнообразных групп эукариот (Hawksworth, 2001). Возраст первых ископаемых остатков грибов —

600 млн лет (Докембрий), а первых наземных грибов — 440 (Силур) (Yuan et al., 2005). Предки последних были связаны с водой и обладали жгутиковыми стадиями, подобно современным *Chytridiomycota*. Способность образовывать симбиотические ассоциации с организмами всех уровней организации, от цианобактерий до сосудистых растений и животных, — фундаментальное свойство грибов и одновременно их эволюционная стратегия. Это свойство сыграло определяющую роль не только в дивергентной эволюции различных групп грибов (James et al., 2006; Liu et al., 2006), но, возможно, и в эволюции жизни на Земле (Heckman et al., 2001). Предшественники современных грибов эволюционировали как симбионты (комменсалы, мутуалисты и паразиты) прокариот и первых эукариот, и весьма вероятно, что предок микроспоридий был уже преадаптирован к внутриклеточному паразитизму. Микроспоридии, этот монофилетичный, широко распространенный и процветающий тип эукариот, состоящий исключительно из внутриклеточных паразитов животных, уникален еще и тем, что, возможно, никогда не имел свободноживущего предка.⁷ Древние корни паразитизма микроспоридий объясняют совершенные и феноменальные приспособления, пронизывающие все уровни организации этих необычных протист: способ проникновения в клетку, взаимоотношения с энергетическими системами клетки хозяина, крайняя редукция генома и метаболических систем и т. д.

С геологической точки зрения диверсификация многочисленных групп эукариот произошла стремительно и одновременно, и последовательность расхождения таксонов от общего предка эукариот определить практически невозможно (Dacks, Doolittle, 2001). Это соображение, высказанное при обсуждении ранней эволюции таксонов эукариот, в полной мере относится к дивергенции групп грибов, возраст которых, рассчитанный по молекулярным часам, составляет 1.5 млрд лет и приблизительно равен предполагаемому времени появления первых эукариот (Heckman et al., 2001). Первые грибы, вероятно, были симбионтами цианобактерий и синезеленых водорослей, подобно некоторым современным представителям *Glomeromycota* (Schussler, 2002). Возникли ли микроспоридии как паразиты одноклеточных, например предков современных *Alveolata*,⁸ а позже через пищевые и паразитарные цепи перешли к паразитированию в многоклеточных? Предположительно наиболее древняя группа микроспоридий, мечниковеллиды (отряд *Metchnikovellida*, класс *Rudimicrosporea*; Sprague, 1977), — гиперпаразиты грегарин семейства *Leucudinidae*, обитающих в пищеварительном тракте морских полихет, сипункулид и эхиурид (Larsson, 2000). Мечниковеллиды характеризуются набором «примитивных» морфологических признаков, в частности короткой полярной трубкой характерного строения и отсутствием полярнопласта (Vavra et al., 1981; Исси, 1986; Larsson, 2000; Larsson, Koie, 2006). Являются ли мечниковеллиды остатком или прямыми потомками древнейшей фауны морских микроспоридий, или они перешли к паразитированию на простейших вторично, т. е. сначала были паразитами многоклеточных хозяев, а потом внедрились в их паразитов/симбионтов, как это показано для некоторых микроспоридий, заражающих грегарин из кишечника олигохет (Исси, 1986)? К сожалению, молекулярные данные по мечниковеллидам, так же как и по хитридиопсидам (отряд *Chytridiopsidae*, класс *Microsporea*; Sprague, 1977) — другой, возможно родственной мечниковеллидам, группе «примитивных» микроспоридий, отсутствуют. В свободноживущих пресноводных инфузориях выявлено несколько видов микроспоридий (Fokin et al., 2008). Единственный в настоящее время доступный сиквенс микроспоридии *Euplotespora binucleata* из инфузорий группируется с кластером, включающим в себя виды *Cystosporogenes* spp. из чешуекрылых и вид *Vittaforma corneae*, единственным хозяином которого является *Homo sapiens* (Fokin et al., 2008). Типичная для «высших» микроспоридий структура споры и характер филогенетических связей *E. binucleata* говорит о том, что

⁷ Здесь можно провести аналогию с общим предком *Basidiomycota* и *Glomeromycota*, который предположительно вел паразитический образ жизни (James et al., 2006).

⁸ Среди хозяев микроспоридий более 40 видов грегарин и инфузорий. В других группах одноклеточных организмов микроспоридии не выявлены.

группа *Cystosporogenes—Vittaforma—Euplotespora*, скорее всего, произошла от общего предка, паразитирующего в членистоногих, споры которого через воду перешли к паразитированию в человеке и в инфузориях-фильтраторах. Могут ли претендовать на родство с мечниковеллидами или хитридиопсидами другие виды микроспоридий, паразитирующие в инфузориях, покажут будущие ультраструктурные и молекулярно-генетические исследования.

Наиболее непротиворечивой представляется точка зрения, основанная на детальном анализе распространения микроспоридий среди групп хозяев (Исси, 1986), согласно которой происхождение микроспоридий связано с переходом их предков к паразитированию в олигохетах и артроподах в Палеозое (Кембрий—Силур, около 400—500 млн лет назад). Расцвет же группы имел место в верхнем Палеозое и Мезозое и был связан с диверсификацией артропод в Карбоне и Триасе (250—350 млн лет назад). Основные группы хозяев встретились с предками микроспоридий при переходе от обитания в типично морских условиях к жизни на литорали, в эстуариях рек и пресноводных водоемах (*Oligochaeta*, *Crustacea*), а также при заселении пресноводных внутренних бассейнов наземными артроподами (*Insecta*, *Hydracarina*), скорее всего, во время частичных регрессий моря в Силуре и Карбоне (Исси, 1986). Характерно, что происхождение первых наземных грибов также датируется Силуром. Если принять точку зрения Джеймса и соавторов (James et al., 2006) об общем происхождении микроспоридий и хитрид, то можно предположить, что современные микроспоридии, как и основные группы грибов, произошли в результате освоения хитридиоподобными предками новой среды обитания. Дальнейшие исследования — ультраструктурные описания и молекулярная характеристика новых видов, выявление ранее неизвестных паразито-хозяинных ассоциаций, и в особенности анализ генетических и экологических связей форм, паразитирующих в простейших и морских беспозвоночных, — позволят более точно датировать происхождение микроспоридий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Протозоология / Под ред. Т. Бейер, И. Исси. Л.: Наука, 1986. С. 6—136.

Соколова Ю. Я., Снигиревская Е. С., Комиссарчик Ю. Я. Аппарат Гольджи паразитических простейших // Цитология. 2007. Т. 49. С. 163—181.

Adl S. M., Simpson A. G. B., Farmer M. A., Andersen R. A., Anderson O. R., Barta J. R., Browser S. S., Brugerolle G., Fensome R. A., Fredericq S., James T. Y., Karpov S., Kugrens P., Krug J., Lane C. E., Lewis L. A., Lodge J., Lynn D. H., Mann D. G., McCourt R. M., Mendoza L., Moestrup O., Mozley-Standridge S. E., Nerad T. A., Shearer C. A., Smirnov A. V., Spiegel F. W., Taylor M. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists // *J. Eukaryotic Microbiol.* 2005. Vol. 52. P. 399—451.

Amiri H., Karlberg O., Andersson S. G. E. Deep origin of plastid/parasite ATP/ADP translocases // *J. Molec. Evolution.* 2003. Vol. 56. P. 137—150.

Arisue N., Hasegawa M., Hashimoto T. Root of the eukaryota tree as inferred from combined maximum likelihood analyses of multiple molecular sequence data // *Molec. Biol. and Evolution.* 2005. Vol. 22. P. 409—420.

Arisue N., Sacher L. B., Weiss L. M., Muller M., Hashimoto T. Mitochondrial-type hsp70 genes of the amitochondriate protists, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and two microsporidians // *Parasitol. International.* 2002. Vol. 51. P. 9—16.

Becknel J. J., Andreadis T. G. Microsporidia in insects // *The Microsporidia and Microsporidiosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 447—501.

Benjamin R. K. Zygomycetes and their spores // *The whole fungus* / Ed. B. Kendrick. Ottawa: National Museums of Canada, 1979. P. 573—621.

Beznoussenko G. V., Dolgikh V. V., Seliverstova E. V., Semenov P. B., Tokarev Y. S., Trucco A., Micaroni M., Di Giandomenico D., Auinger P., Senderskiy I. V., Skarlato S. O., Snigirevskaya E. S., Komissarchik Y. Y., Pavelka M., De Matteis M. A., Luini A., Sokolova Y. Y., Mironov A. A. Analogs of the Golgi complex in microsporidia: structure and vesicular mechanisms of function // *J. Cell Sci.* 2007. Vol. 120. P. 1288—1298.

Biderre C., Metenier G., Vivares C. P. A small spliceosomal-type intron occurs in a ribosomal protein gene of the microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1998. Vol. 94. P. 283—286.

Brown J. R., Doolittle W. F. Root of the universal tree of life base on ancient aminoacyl-transfer-RNA synthetase gene duplications // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1995. Vol. 92. P. 2441—2445.

Bruns T. Evolutionary biology — a kingdom revised // *Nature.* 2006. Vol. 443. P. 758.

Burri L., Williams B. A. P., Bursac D., Lithgow T., Keeling P. J. Microsporidian mitochondria retain elements of the general mitochondrial targeting system // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2006. Vol. 103. P. 15 916—15 920.

Canning E. U., Vavra J. *Phyllum Microsporida Balbiani 1882 // An Illustrated Guide to the Protozoa* / Eds J. J. Lee et al. Society of Protozoologists, Lawrence Kansas USA, 2000. P. 39—126.

Cavalier-Smith T. A 6-kingdom classification and a united phylogeny // *Endocytobiology II* / Eds W. Schwemmler, H. Schenk. Berlin: Gruyter, 1983. P. 265—279.

Cavalier-Smith T. *Cell evolution // Evolution of life* / Eds S. Osawa, T. Honjo. Tokyo: Springer-Verlag, 1991. P. 271—304.

Cavalier-Smith T. Kingdom Protozoa and its 18 phyla // *Microbiol. Rev.* 1993. Vol. 57. P. 953—994.

Cavalier-Smith T. Obcells as proto-organisms: Membrane heredity, lithophosphorylation, and the origins of the genetic code, the first cells, and photosynthesis // *J. Molec. Evolution.* 2001a. Vol. 53. P. 555—595.

Cavalier-Smith T. What are fungi? // *The Mycota* / Eds D. J. McLaughlin et al. New York: Springer, 2001b. P. 3—37.

Cavalier-Smith T. Economy, speed and size matter: Evolutionary forces driving nuclear genome miniaturization and expansion // *Ann. Bot.* 2005. Vol. 95. P. 147—175.

Corliss J. O. An interim utilitarian (user-friendly) hierarchical classification and characterization of the Protists // *Acta Protozoologica.* 1994. Vol. 33. P. 1—51.

Corradi N., Akiyoshi D. E., Morrison H. G., Feng X., Weiss L. M., Tzipori S., Keeling P. J. Patterns of genome evolution among the microsporidian parasites *Encephalitozoon cuniculi*, *Antonospora locustae* and *Enterocytozoon bieneusi* // *PLoS ONE.* 2007. Vol. 2. P. 1277—1291.

Dacks J. B., Davis L. A. M., Sjogren A. M., Andersson J. O., Roger A. J., Doolittle W. F. Evidence for Golgi bodies in proposed 'Golgi-lacking' lineages // *Proc. of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences.* 2003. Vol. 270. P. S168—S171.

Dacks J. B., Doolittle W. F. Reconstructing/deconstructing the earliest eukaryotes: How comparative genomics can help // *Cell.* 2001. Vol. 107. P. 419—425.

Edlind T. D., Li J., Visvesvara G. S., Vodkin M. H., McLaughlin G. L., Katiyar S. K. Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa // *Molec. Phylogenet. and Evolution.* 1996. Vol. 5. P. 359—367.

Edman J. C., Kovacs J. A., Masur H., Santi D. V., Elwood H. J., Sogin M. L. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carini* to be a member of the Fungi // *Nature.* 1988. Vol. 334. P. 519—522.

Fast N. M., Doolittle W. F. *Trichomonas vaginalis* possesses a gene encoding the essential spliceosomal component, PRP8 // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1999. Vol. 99. P. 275—278.

Fast N. M., Law J. S., Williams B. A., Keeling P. J. Bacterial catalase in the microsporidian *Nosema locustae*: implications for microsporidian metabolism and genome evolution // *Eukaryot Cell.* 2003. Vol. 2. P. 1069—1075.

Fast N. M., Roger A. J., Richardson C. A., Doolittle W. F. U2 and U6 snRNA genes in the microsporidian *Nosema locustae*: evidence for a functional spliceosome // *Nucl. Acids Res.* 1998. Vol. 26. P. 3202—3207.

- Felsenstein J. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading // *Systematic Zoology*. 1978. Vol. 27. P. 401—410.
- Findley A. M., Weidner E. H., Carman K. R., Xu Z. M., Godbar J. S. Role of the posterior vacuole in *Spraguea lophii* (Microsporidia) spore hatching // *Folia Parasitologica*. 2005. Vol. 52. P. 111—117.
- Fischer W. M., Palmer J. D. Evidence from small-subunit ribosomal RNA sequences for a fungal origin of Microsporidia // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2005. Vol. 36. P. 606—622.
- Flegel T. W., Pasharawipas T. A proposal for typical eukaryotic meiosis in microsporidians // *Can. J. Microbiol.* 1995. Vol. 41. P. 1—11.
- Fokin S. I., Di Giuseppe G., Erra F., Dini F. *Euplotespora binucleata* n. gen., n. sp (Protozoa : Microsporidia), a parasite infecting the hypotrichous ciliate *Euplotes woodruffi*, with observations on microsporidian infections in Ciliophora // *J. Eukaryotic Microbiol.* 2008. Vol. 55. P. 214—228.
- Germot A., Philippe H., LeGuyader H. Evidence for loss of mitochondria in Microsporidia from a mitochondrial-type HSP70 in *Nosema locustae* // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1997. Vol. 87. P. 159—168.
- Gill E. E., Fast N. M. Assessing the microsporidia-fungi relationships: combined phylogenetic analysis of eight genes // *Gene*. 2006. P. 103—109.
- Hausmann S., Vivares C. P., Shuman S. Characterization of the mRNA capping apparatus of the microsporidian parasite *Encephalitozoon cuniculi* // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 96—103.
- Hawksworth D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited // *Mycol. Res.* 2001. Vol. 105. P. 1422—1432.
- Heckman D. S., Geiser D. M., Eidell B. R., Stauffer R. L., Kardos N. L., Hedges S. B. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants // *Science*. 2001. Vol. 293. P. 1129—1133.
- Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F., Blackwell M., Cannon P. F., Eriksson O. E., Huhndorf S., James T., Kirk P. M., Lücking R., Lumbsch H. T., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D. J., Powell M. J., Redhead S., Schoch C. L., Spatafora J. W., Stalpers J. A., Vilgalys R., Aime M. C., Aptroot A., Bauer R., Begerow D., Benny G. L., Castlebury L. A., Crous P. W., Dai Y. C., Gams W., Geiser D. M., Griffith G. W., Gueidan C., Hawksworth D. L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R. A., Hyde K. D., Ironside J. E., Koljalg U., Kurtzman C. P., Larsson K. H., Lichtwardt R., Longcore J., Miadlikowska J., Miller A., Moncalvo J. M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J. D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J. P., Schussler A., Sugiyama J., Thorn R. G., Tibell L., Untereiner W. A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiss M., White M. M., Winka K., Yao Y. J., Zhang N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi // *Mycol. Res.* 2007. Vol. 111. P. 509—547.
- Hirt R. P., Healy B., Vossbrinck C. R., Canning E. U., Embley T. M. A mitochondrial Hsp70 orthologue in *Vairimorpha necatrix*: Molecular evidence that microsporidia once contained mitochondria // *Curr. Biology*. 1997. Vol. 7. P. 995—998.
- Hirt R. P., Logsdon J. M., Healy B., Dorey M. W., Doolittle W. F., Embley T. M. Microsporidia are related to Fungi: Evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999. Vol. 96. P. 580—585.
- Ingold C. T. Mechanisms of liberation of spores and pollen // *Hautarzt*. 1972. Vol. 23. P. 40—55.
- James T. Y., Kauff F., Schoch C. L., Matheny P. B., Hofstetter V., Cox C. J., Celio G., Gueidan C., Fraker E., Miadlikowska J., Lumbsch H. T., Rauhut A., Reeb V., Arnold A. E., Amtoft A., Stajich J. E., Hosaka K., Sung G. H., Johnson D., O'Rourke B., Crockett M., Binder M., Curtis J. M., Slot J. C., Wang Z., Wilson A. W., Schussler A., Longcore J. E., O'Donnell K., Mozley-Standridge S., Porter D., Letcher P. M., Powell M. J., Taylor J. W., White M. M., Griffith G. W., Davies D. R.,

Humber R. A., Morton J. B., Sugiyama J., Rossman A. Y., Rogers J. D., Pfister D. H., Hewitt D., Hansen K., Hambleton S., Shoemaker R. A., Kohlmeyer J., Volkmann-Kohlmeyer B., Spotts R. A., Serdani M., Crous P. W., Hughes K. W., Matsuura K., Langer E., Langer G., Untereiner W. A., Lucking R., Budel B., Geiser D. M., Aptroot A., Diederich P., Schmitt I., Schultz M., Yahr R., Hibbett D. S., Lutzoni F., McLaughlin D. J., Spatafora J. W., Vilgalys R. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny // *Nature*. 2006. Vol. 443. P. 818—822.

Kamaishi T., Hashimoto T., Nakamura Y., Masuda Y., Nakamura F., Okamoto K., Shimizu M., Hasegawa M. Complete nucleotide sequences of the genes encoding translation elongation factors 1 alpha and 2 from a microsporidian parasite, *Glugea plecoglossi*: Implications for the deepest branching of eukaryotes // *J. Biochemistry*. 1996a. Vol. 120. P. 1095—1103.

Kamaishi T., Hashimoto T., Nakamura Y., Nakamura F., Murata S., Okada N., Okamoto K., Shimizu M., Hasegawa M. Protein phylogeny of translation elongation factor EF-1 alpha suggests microsporidians are extremely ancient eukaryotes // *J. Molec. Evolution*. 1996b. Vol. 42. P. 257—263.

Katinka M. D., Duprat S., Cornillot E., Metenier G., Thomarat F., Prensier G., Barbe V., Peyretailade E., Brottier P., Wincker P., Delbac F., El Alaoui H., Peyret P., Saurin W., Gouy M., Weissenbach J., Vivares C. P. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi* // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 450—453.

Keeling P. J. Parasites go the full monty // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 401—402.

Keeling P. J. Congruent evidence from alpha-tubulin and beta-tubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of microsporidia // *Fungal Genetics and Biology*. 2003. Vol. 38. P. 298—309.

Keeling P. J., Doolittle W. F. Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family // *Molec. Biol. and Evolution*. 1996. Vol. 13. P. 1297—1305.

Keeling P. J., Fast N. M. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites // *Ann. Rev. Microbiol.* 2002. Vol. 56. P. 93—116.

Keeling P. J., Fast N. M., Law J. S., Williams B. A. P., Slamovits C. H. Comparative genomics of microsporidia // *Folia Parasitologica*. 2005. Vol. 52. P. 8—14.

Keeling P. J., McFadden G. I. Origins of microsporidia // *Trends in Microbiology*. 1998. Vol. 6. P. 19—23.

Keeling P. J., Slamovits C. H. Simplicity and complexity of microsporidian genomes // *Eukaryotic Cell*. 2004. Vol. 3. P. 1363—1369.

Keoghane E. M., Weiss L. M. The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube // *The Microsporidia and Microsporidiosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 196—224.

Koonin E. V., Fedorova N. D., Jackson J. D., Jacobs A. R., Krylov D. M., Makarova K. S., Mazumder R., Mekhedov S. L., Nikolskaya A. N., Rao B. S., Rogozin I. B., Smirnov S., Sorokin A. V., Sverdlov A. V., Vasudevan S., Wolf Y. I., Yin J. J., Natale D. A. A comprehensive evolutionary classification of proteins encoded in complete eukaryotic genomes // *Genome Biology*. 2004. Vol. 5(2). P. R7.

Kudo R. A biological and taxonomic study of the microsporidia // *Illinois Biol. Monograph*. 1924. Vol. 9. P. 1—268.

Kudo R. Protozoology 5th ed. / Ed. C. T. Charles. Springfield, Illinois, 1966. 568 p.

Labbe A. Sporozoa // Friedlander u Sohn. Berlin, 1899. 218 S.

Larsson J. I. R. The hyperparasitic microsporidium *Amphiacantha longa* Caullery et Mesnil, 1914 (Microspora: Metchnikovellidae) — description of the cytology, redescription of the species, emended diagnosis of the genus *Amphiacantha* and establishment of the new family *Amphiacanthidae* // *Folia Parasitologica*. 2000. Vol. 47. P. 241—256.

Larsson J. I. R., Koie M. The ultrastructure and reproduction of *Amphiamblys capitellides* (Microspora, Metchnikovellidae), a parasite of the gregarine *Ancora sagittata* (Apicomplexa, Lecudinidae), with redescription of the species and comments on the taxonomy // *Europ. J. Protistology*. 2006. Vol. 42. P. 233—248.

Levine N. D., Corliss J. O., Cox F. E. G., Deroux G., Grain J., Honigberg B. M., Leedale G. F., Loeblich A. R., Lom J., Lynn D., Merinfeld E. G., Page F. C., Poljan-sky G., Sprague V., Vavra J., Wallace F. G. A newly revised classification of the Protozoa // *J. Protozoology*. 1980. Vol. 27. P. 37—58.

Liu Y. J., Hodson M. C., Hall B. D. Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage: phylogenetic structure of Kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes // *BMC Evolut. Biol.* 2006. Vol. 6. P. 1—13.

Philippe H., Laurent J. How good are deep phylogenetic trees? // *Curr. Opin. in Genet. De-velopment*. 1998. Vol. 8. P. 616—623.

Philippe H., Lopez P., Brinkmann H., Budin K., Germot A., Laurent J., More-ira D., Muller M., Le Guyader H. Early-branching or fast-evolving eukaryotes? An answer ba-sed on slowly evolving positions // *Proc. of the Royal Society of London Series B-Biological Scien-ces*. 2000. Vol. 267. P. 1213—1221.

Roger A. J. Reconstructing early events in eukaryotic evolution // *Amer. Naturalist*. 1999. Vol. 154. P. S146—S163.

Schussler A. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant and Soil*. 2002. Vol. 244. P. 75—83.

Slamovits C. H., Fast N. M., Law J. S., Keeling P. J. Genome compaction and stability in microsporidian intracellular parasites // *Curr. Biol.* 2004. Vol. 14. P. 891—896.

Sokolova Y. Y., Mironov A. A. Structure and function of the Golgi organelle in parasitic protists // *The Golgi Apparatus. State of art 110 years after Camillo Golgi's discovery* / Eds A. Miro-nov, M. Pavelka. Wienn; New York: Springer, 2008. P. 647—675.

Sprague V. Classification and phylogeny of the Microsporidia // *Comparative Pathobiology*/ Eds J. L. A. Bulla, T. C. Cheng. New York; London: Plenum Press, 1977. P. 1—31.

Sprague V., Becnel J. J., Hazard E. I. Taxonomy of Phylum Microspora // *Crit. Rev. in Microbiol.* 1992. Vol. 18. P. 285—395.

Tanabe Y., O'Donnell K., Saikawa M., Sugiyama J. Molecular phylogeny of parasitic Zygomycota (Dimargaritales, Zoopagales) based on nuclear small subunit ribosomal DNA sequen-ces // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2000. Vol. 16. P. 253—262.

Tanabe Y., Saikawa M., Watanabe M. M., Sugiyama J. Molecular phylogeny of Zy-gomycota based on EF-1 alpha and RPB1 sequences: limitations and utility of alternative markers to rDNA // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2004. Vol. 30. P. 438—449.

Tanabe Y., Watanabe M. M., Sugiyama J. Are Microsporidia really related to Fungi?: a reappraisal based on additional gene sequences from basal fungi // *Mycol. Res.* 2002. Vol. 106. P. 1380—1391.

Van de Peer Y., Ben Ali A., Meyer A. Microsporidia: accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi // *Gene*. 2000. Vol. 246. P. 1—8.

Vavra J., Canning E. U., Barker R. J., Desportes I. Characters of microsporidia gene-ra // *Parasitology*. 1981. Vol. 82. P. 131—142.

Vavra J., Larsson R. Structure of Microsporidia // *The Microsporidia and Microspori-diosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 55—77.

Vossbrinck C. R., Maddox J. V., Friedman S., Debrunner-Vossbrinck B. A., Woese C. R. Ribosomal-RNA sequence suggests Microsporidia are extremely ancient eukaryotes // *Nature*. 1987. Vol. 326. P. 411—414.

Vossbrinck C. R., Woese C. R. Eukaryotic ribosomes that lack a 5.8s RNA // *Nature*. 1986. Vol. 320. P. 287—288.

Weidner E., Findley A. Peroxisomal catalase in extrusion apparatus posterior vacuole of microsporidian spores // *Biol. Bull.* 2002. Vol. 203. P. 212.

Weidner E., Findley A. Catalase in microsporidian spores before and during discharge // *Biol. Bull.* 2003. Vol. 205. P. 236—237.

Williams B. A. P., Hirt R. P., Lucocq J. M., Embley T. M. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis* // *Nature*. 2002. Vol. 418. P. 865—869.

Williams B. A. P., Keeling P. J. Microsporidian mitochondrial proteins: expression in *An-tonospora locustae* spores and identification of genes coding for two further proteins // *J. Eukaryotic Microbiol.* 2005. Vol. 52. P. 271—276.

Williams B. A. P., Slamovits C. H., Patron N. J., Fast N. M., Keeling P. J. A high frequency of overlapping gene expression in compacted eukaryotic genomes // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2005. Vol. 102. P. 10 936—10 941.

Yuan X. L., Xiao S. H., Taylor T. N. Lichen-like symbiosis 600 million years ago // *Science.* 2005. Vol. 308. P. 1017—1020.

Институт цитологии РАН
Санкт-Петербург
jumicro@yahoo.com

Поступила VII 2008

РЕЗЮМЕ

Microsporidia Balbiani, 1882 — уникальная группа внутриклеточных паразитических эукариот, в последние два десятилетия привлекающая к себе все возрастающее внимание исследователей, в особенности медиков и эволюционных биологов. Совершенные приспособления к паразитизму, выраженные, с одной стороны, в редукции ряда органелл, генов и метаболических путей, а с другой — в эволюции сложнейших механизмов внедрения и взаимодействия с клеткой хозяина, изменили до неузнаваемости признаки родственных связей микроспоридий с другими эукариотами как на морфологическом, так и на молекулярном уровне. Исторически микроспоридий относили к простейшим, однако в последние 10—15 лет накопились убедительные молекулярные и биохимические доказательства, свидетельствующие в пользу родства микроспоридий с грибами или даже принадлежности микроспоридий к царству *Fungi*. В настоящий момент наиболее вероятными представляются следующие позиции микроспоридий на филогенетическом древе (в порядке убывания вероятности): 1) сестринская группа по отношению к *Fungi* в целом, 2) сестринская группа по отношению к *Chytridiomycota*; 3) группа *Zygomycota*; 4) сестринская группа по отношению к высшим грибам *Dikarya*. Настоящий обзор — попытка суммировать и критически проанализировать многочисленные и противоречивые данные по филогенетике и происхождению микроспоридий.

Ключевые слова: *Microsporidia*, *Fungi*, молекулярная филогения, происхождение микроспоридий.

SUMMARY

Phylum *Microsporidia* Balbiani 1882, a unique group of intracellular parasitic eukaryotes, during the last two decades have been in a focus of increasing attention of scientists, in particular evolutionary biologists and physicians. Profound adaptations to the parasitic lifestyle, leading to extreme reduction of organelles, genes and metabolic pathways but also to evolving sophisticated mechanisms of infection and interaction with host cells have altered beyond recognition morphological and molecular markers of evolutionary relationships of microsporidia with other eukaryotes. *Microsporidia* used to be classified as Protozoa, but molecular and biochemical data accumulated during last 10—15 years suggest *Microsporidia* are probably closely related to *Fungi*, or even belong to the Kingdom *Fungi*. The following positions of *Microsporidia* on the Tree of Life are considered as the most likely (in the order of decreasing probability): 1) as a sister group to *Fungi*; 2) as a sister group to *Chytridiomycota*; 3) as a taxon of *Zygomycota*; 4) as a sister group to *Dikarya*. This review is an attempt to summarize and critically analyze the controversial data on molecular phylogeny and origin of microsporidia.

Key words: *Microsporidia*, *Fungi*, molecular phylogeny, origin of microsporidia.