

УДК 57.065:577.29

МИКРОСПОРИДИИ И ИХ БЛИЖАЙШИЕ РОДСТВЕННИКИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭВОЛЮЦИИ УНИКАЛЬНОЙ ГРУППЫ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПАЗАРИТОВ

© 2020 г. С. А. Тимофеев*, И. В. Сендерский,
В. С. Журавлев, В. В. Долгих

Всероссийский институт защиты растений,
ш. Подбельского 3, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608 Россия
*e-mail: ts-bio@ya.ru

Поступила в редакцию 21.07.2020 г.

После доработки 02.09.2020 г.

Принята к печати 07.09.2020 г.

В обзоре рассмотрены современные представления об эволюции и филогении облигатных внутриклеточных эукариотических паразитов – микроспоридий. В процессе адаптации к внутриклеточному паразитизму геном и функциональный аппарат данных организмов претерпел значительную редукцию и модификацию. Систематическое положение данной группы долгое время оставалось неясным, и было доподлинно неизвестно, как происходила эволюция микроспоридий, когда и каким образом возникли их уникальные адаптации к паразитическому образу жизни. Настоящий прорыв в изучении эволюции микроспоридий был осуществлен только в последние несколько лет. Были обнаружены и описаны группы, занимающие наиболее близкое к микроспоридиям положение на древе жизни: Cryptomycota (Rozellida) и Aphelida. Секвенирование геномов представителей данных групп, которые также относятся к внутриклеточным паразитам, и первые геномные данные о представителях базальных ветвей микроспоридий, полученные в 2013–2020 гг., позволили по-новому взглянуть на эволюцию микроспоридий и их ближайших родственников, обнаружить промежуточные формы на пути адаптации к внутриклеточному паразитизму.

Ключевые слова: Microsporidia, Aphelida, Cryptomycota, внутриклеточные паразиты, эволюция

DOI: 10.31857/S1234567806050016

Микроспоридии – это облигатные внутриклеточные эукариотические паразиты, освоившие чрезвычайно широкий круг хозяев, от протистов до млекопитающих (Токарев и др., 2016; Stentiford et al., 2016). Пятнадцать видов микроспоридий способны заражать человека, вызывая микроспоридиозы – повсеместно распространенные заболевания, обычно проявляющиеся у пациентов с ослабленным иммунитетом (Тимофеев, 2015). Кроме того, микроспоридии наносят огромный ущерб таким отраслям сельского хозяйства как пчеловодство и шелководство, вызывая тяжелые болезни у медоносной пчелы и тутового шелкопряда (Stentiford et al., 2016; Martín-Hernández

et al., 2018). Все активные стадии жизненного цикла микроспоридий функционируют только внутри клеток их хозяев, за пределами которых эти паразиты могут выживать только в виде толстостенных спор с уникальной морфологией. В процессе адаптации к внутриклеточному паразитизму геном и набор характерных для эукариот клеточных систем и органелл данных организмов был значительно редуцирован и модифицирован (Cuomo et al., 2012). Микроспоридии утратили множество метаболических путей, в том числе способность к синтезу многих аминокислот и нуклеотидов, в результате чего они в значительной степени стали зависеть от субстратов, заимствуемых у клеток хозяина (Dean et al., 2016). Именно у микроспоридий, впервые среди эукариот, были обнаружены уникальные переносчики АТФ, способные напрямую транспортировать это соединение из цитоплазмы инфицированной клетки. Эта адаптация позволяет данным паразитам не использовать собственную систему энергетического метаболизма в ходе внутриклеточного развития, а полностью полагаться на энергетические ресурсы хозяина (Dolgikh et al., 2011; Tsaousis et al., 2008; Alexander et al., 2016).

Систематическое положение микроспоридий долгое время оставалось неясным и было доподлинно неизвестно, как происходила их эволюция, когда и каким образом они приобрели свои уникальные адаптации к паразитическому образу жизни. Благодаря развитию методов молекулярной филогении, в начале нынешнего столетия появились первые данные, свидетельствующие о родстве микроспоридий с грибами (Hirt et al., 1999; Keeling et al., 2000). Однако эти данные не позволяли ответить на вопрос, каким образом происходила эволюция микроспоридий, практически не имеющих специфических черт, общих с другими группами грибов. Настоящий прорыв в области изучения эволюции микроспоридий был осуществлен только за последние несколько лет. В начале последнего десятилетия были опубликованы данные об обнаружении группы под названием *Rozellida* (Lara et al., 2010) или *Cryptomycota* (Jones et al., 2011), которая рассматривалась в качестве базального таксона среди грибов. Помимо многочисленных сиквенсов неидентифицированных объектов из образцов окружающей среды, в пределах данной группы был известен единственный описанный род *Rozella* – паразит грибов или водорослей, ранее относимый к хитридиомицетам. Для представителей данного рода характерны фаготрофное питание и расселение с помощью зооспор. Параллельно с этим публиковались работы, в которых в качестве базальной группы грибов рассматривались микроспоридии (Capella-Gutiérrez et al., 2012). В 2013 г. было продемонстрировано близкое родство микроспоридий и *Cryptomycota*. При этом анализ расшифрованного в указанной работе генома *Rozella allomyces* показал, что для данного вида характерна сильная степень редукции и модификации функционального аппарата, выраженная в чуть меньшей степени, чем у микроспоридий (James et al., 2013). В это же время было показано, что к микроспоридиям и криптомикотам близка еще одна группа грибов: *Aphelida* (Karpov et al., 2013; Karpov et al., 2014). Представители данного таксона представляют собой фаготрофных зооспоровых паразитоидов водорослей, морфологически схожих с *Rozella* sp.

Вскоре после этого был обнаружен новый вид паразитов, относящийся, по данным молекулярной филогении, к *Cryptomycota*: *Paramicrosporidium* sp., обладающий сходной с микроспоридиями морфологией и развивающийся внутри ядер амеб (Corsaro et al., 2014). Кроме того, был переописан другой вид внутриядерных паразитов амеб – *Nucleophaga amoebae* и было показано, что этот вид родственен *Paramicrosporidium* и также относится к розеллидам (Corsaro et al., 2014a). В это же время были опубликованы описание и данные расшифровки генома уникального паразита дафний

Mitosporidium daphniae, морфологически схожего с микроспоридиями и по степени редукции и специализации генома к паразитическому образу жизни занимающего промежуточное положение между данной группой и *R. allomycis* (Haag et al., 2014). В последующие годы были расшифрованы геномы криптомикота *P. saccamoebae* (Quandt et al., 2017), афелиды *Paraphelidium tribonemae* (Torruella et al., 2018), а также двух представителей ранее не изученной с точки зрения молекулярной филогении группы микроспоридий – мечниковеллид, которые заняли базальное положение в системе данных паразитов (Mikhailov et al., 2017; Galindo et al., 2018). Однако год спустя были опубликованы результаты молекулярно-филогенетического анализа микроспоридии *Chytridiopsis typographi*, и клада Chytridiopsida сменила мечниковеллид в качестве базальных микроспоридий (Corsaro et al., 2019). В 2020 г. был описан новый вид розеллид *Morellospora saccamoebae*, являющийся паразитом амёб и имеющий схожую с микроспоридиями морфологию, как и представители родов *Nucleophaga* и *Paramicrosporidium* (Corsaro et al., 2020). Однако, в отличие от последних, *M. saccamoebae* развивался не в ядрах амёб, а в их цитоплазме.

Таким образом, обнаружение ближайших родственников микроспоридий, расшифровка их геномов вкупе с геномными данными о корневых группах самих микроспоридий позволили по-новому взглянуть на эволюцию данной группы. В настоящем обзоре будут рассмотрены особенности функциональной морфологии, жизненных циклов, геномов и других клеточных систем микроспоридий, розеллид и афелид и обсуждены вероятные эволюционные пути развития данных систем.

СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛОЖЕНИИ ТАКСОНОВ APHELIDA, CRYPTOMYCOTA И MICROSPORIDIA

Афелиды (Aphelida Karpov et al., 2014 или Aphelidiomycota Tedersoo et al., 2018) – небольшая группа внутриклеточных паразитоидов водорослей, первый представитель которой, *Aphelidium* sp., был описан еще в 1885 г. (Karpov et al., 2014). На сегодняшний день в составе группы описано около 20 видов в составе 4 родов (Seto et al., 2020). С момента первоописания группа рассматривалась как таксон различного ранга в таких группах как “Monadinea”, “Rhizopoda”, “Mezomycetozoea”, “Paramycia” (Gromov, 2000). В 2014 г. на основании массива молекулярно-филогенетических данных группе был присвоен ранг типа в составе надтипа Opisthosporidia, который включает также микроспоридий и розеллид и является сестринским таксоном по отношению к грибам (Karpov et al., 2014). Однако расшифровка первого транскриптома афелиды *Paraphelidium tribonemae* и применение методик мультигенной филогении (Torruella et al., 2018) показали, что Opisthosporidia представляет собой парафилетическую группу и что афелиды занимают более близкое к грибам положение, чем другие таксоны данной группы (рис. 1).

Таксономическое положение розеллид (Rozellida Lara et al., 2010), или криптомикот (Cryptomycota Jones, Richards, 2011), также описанных под названиями Rozellomycota Corsaro et al., 2014b и Rozellosporidia Karpov et al., 2017, на сегодняшний день остается предметом дискуссий. Согласно ряду исследований, этот таксон включает в себя как 27 видов – паразитов грибов, оомицетов и водорослей в составе рода *Rozella*, морфологически схожих с афелидами и зооспоровыми грибами, так и схожих с микроспоридиями паразитов, относящихся к родам *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium*, *Morellospora* и *Mitosporidium* (Corsaro et al., 2020; Torruella et al., 2018). По мнению других

исследователей, представителей группы, за исключением *Rozella*, следует считать примитивными микроспоридиями (Bass et al., 2018; Adl et al., 2019). На предложенной нами консенсусной кладограмме мы отразили это противоречие в виде перекрывающихся границ между таксонами Rozellida и Microsporidia (рис. 1). По нашему мнению, для однозначного разграничения розеллид и микроспоридий на сегодняшний день накоплено недостаточно данных. При этом, несмотря на различную трактовку границ между этими таксонами, характер филогенетических взаимоотношений между описанными видами розеллид и микроспоридий не является предметом дискуссий в последних опубликованных работах. Таким образом, вопрос о систематическом положении *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium* и др. является формальностью и не влияет на наши представления об эволюции розеллид и микроспоридий. Для унификации терминологии в рамках данной работы мы будем обозначать представителей этих морфологически сходных с микроспоридиями видов как «высшие розеллиды».

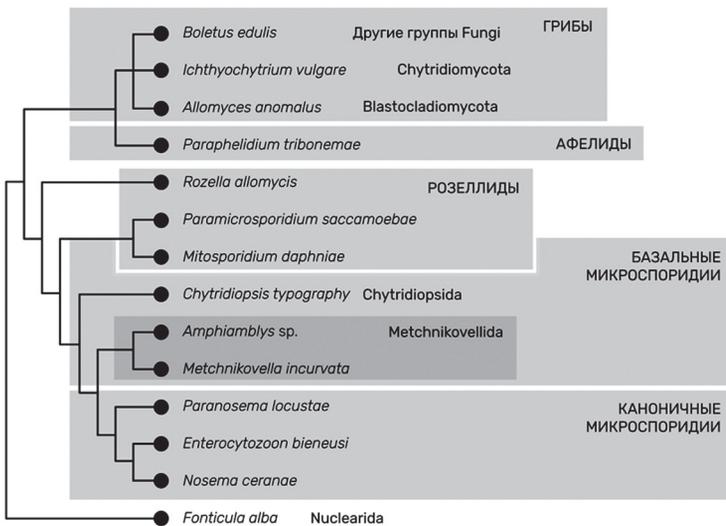


Рисунок 1. Консенсусная кладограмма, отражающая эволюционные взаимоотношения микроспоридий, розеллид и афелид согласно Bass et al., 2018; Galindo et al., 2018; Torruella et al., 2018; Corsaro et al., 2019. Пересечение границ таксонов розеллид и базальных микроспоридий указывает на дискуссионное положение *P. saccamoebae* и *M. daphnia*, которых иногда рассматривают как примитивных микроспоридий (Bass et al., 2018).

Figure 1. Consensus cladogram reflecting the evolutionary relationships of microsporidia, rozellids and apheleids according to Bass et al., 2018; Galindo et al., 2018; Torruella et al., 2018; Corsaro et al., 2019.

The intersection of the boundaries of the rozellid taxa and basal microsporidia indicates the controversial position of *P. saccamoebae* and *M. daphnia*, which are sometimes considered as primitive microsporidia (Bass et al., 2018).

Рассматривая систематическое положение микроспоридий, мы разделили данный таксон на две условные группы, представители которых существенно отличаются друг от друга по целому ряду морфологических и генетических признаков (Corsaro et al., 2020; Galindo et al., 2018). Первая группа – «Базальные микроспоридии» – включает в себя две клады, занимающие положение в корне филогенетического древа:

специализированных гиперпаразитов грегариин *Metchnikovellida*, а также *Chytridiopsida*, заражающих главным образом наземных членистоногих (насекомых, клещей и многоножек) и кольчатых червей (Corsaro et al., 2019). Кроме того, как уже было сказано, ряд исследователей относит к базальным микроспоридиям высших розеллид (Bass et al., 2018; Adl et al., 2019). Вторая группа – «Каноничные микроспоридии» – наиболее хорошо изученная группа, включающая в себя большую часть микроспоридий (рис.1).

Помимо противоречий в установке границ между описываемыми таксонами, предметом дискуссий до сих пор является характер их взаимоотношений с группой *Fungi*. В данной работе мы придерживаемся гипотезы, согласно которой *Aphelida*, *Cryptomycota* и *Microsporidia* следует рассматривать в качестве сестринских таксонов для грибов (Bass et al., 2018; Karpov et al., 2017; Galindo et al., 2018), т.к. данные группы в совокупности практически не имеют общих признаков с другими группами грибов. При этом в систематических обзорах последних лет, посвященных классификации эукариот, описываемые таксоны обычно включаются в состав группы *Fungi* (Adl et al., 2019; Tedersoo et al., 2018), хотя в этом случае, как утверждают сами авторы, у грибов не остается однозначных морфологических, субклеточных или биохимических синапоморфий (Adl et al., 2019).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОСПОРИДИЙ И ИХ БЛИЖАЙШИХ РОДСТВЕННИКОВ

Функциональная морфология и образ жизни

Стадией дисперсии у афелид являются споры, представленные в виде одножгутиковых зооспор или амебоидных клеток с развитым или редуцированным жгутиком. При контакте с клеткой хозяина спора прикрепляется к ней, инцистируется и формирует трубку, которая проникает («прорастает») через клеточную стенку водоросли. Через эту трубку амебоидный зародыш попадает в пространство между клеточной стенкой и плазмалеммой клетки хозяина и начинает поглощать ее содержимое путем фагоцитоза. На следующей стадии развития амебоидный трофонт превращается в многоядерный плазмодий, который полностью замещает содержимое клетки хозяина. За счет деления плазмодия образуются новые расселительные стадии, которые покидают клетку хозяина и замыкают цикл развития паразитоида. Для некоторых видов афелид показано образование внутри клеток хозяев т.н. «покоящихся спор», которые так же как и инфекционная циста имеют клеточную стенку из хитина (Karpov et al., 2014; Letcher, Powell, 2019; Torruella et al., 2018). Зооспоры афелид, как и амебоидные трофонты, обладают полным набором органелл эукариотической клетки – полноценными митохондриями, эндоплазматическим ретикулумом, аппаратом Гольджи и т.д.

Несмотря на то, что жизненный цикл криптомикотов *Rozella* sp. в первом приближении аналогичен таковому у афелид, за исключением отсутствия у данного рода амебоидных расселительных стадий (Letcher, Powell, 2018), по всей видимости, для представителей *Rozella* характерно более тонкое взаимодействие с клеткой хозяина, чем для афелид. Существенные различия между представителями этих двух групп были обнаружены при сравнительном анализе тонкого строения их клеток и особенностей взаимоотношений с клеткой хозяина на ультраструктурном уровне. Как и афелиды, криптомикоты проникают в пространство между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной клетки хозяина (Powell et al., 2017). Афелиды после этого

поглощают содержимое клетки хозяина за счет фагоцитоза «извне», не проникая через ее плазмалемму внутрь цитоплазмы. Представители рода *Rozella*, напротив, проникают внутрь хозяйинной клетки за счет инвагинации ее цитоплазматической мембраны и затем поглощают ее содержимое «изнутри» (Powell, Letcher, 2019) (рис.2). При этом если на раннем этапе заражения (около 24 ч после инфекции) паразит развивается в вакуоли и окружен, помимо собственной плазмалеммы, одной мембраной, являющейся производным плазмалеммы хозяина, то на более позднем этапе (около 96 ч) развивающийся плазмодиум *Rozella* оказывается заключенным уже в двухмембранную вакуоль. По мнению авторов последних исследований, описывавших инфекционный процесс у *R. allomycis* (Powell et al., 2017; Powell, Letcher, 2019), первичная вакуоль со временем разрушается, и образующаяся ей на смену двухмембранная структура уже не является производным цитоплазматической мембраны хозяина. Эта вакуоль может иметь разное происхождение и разную структуру у разных видов розеллид. У *R. allomycis* и *R. rhizoclosmatii* она состоит из образований, обозначенных авторами как “host cisterna”, и имеет вид сплошной двойной мембраны, плотно прилегающей к плазмалемме паразита. В тоже время плазмодиум *R. polyphagi* окружен разбросанными участками гладкого и шероховатого эндоплазматического ретикулума хозяина, не образующими сплошного слоя (Powell, Letcher, 2019).

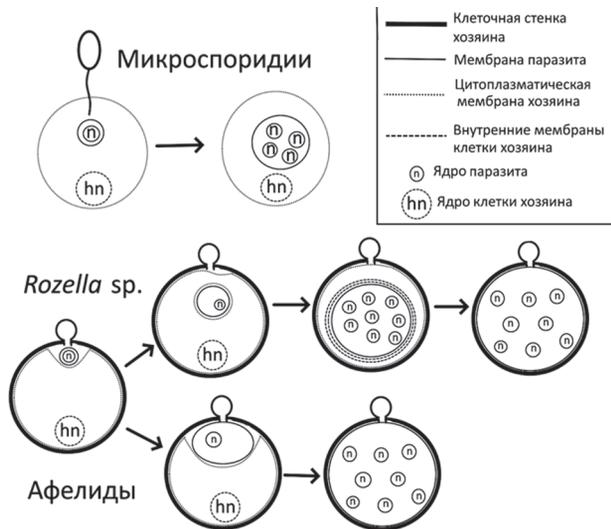


Рисунок 2. Упрощенная схема фрагмента жизненного цикла от инфицирования клетки хозяина до развития многоядерного плазмодия у микроспоридий, *Rozella* sp. и афелид, иллюстрирующая различное положение данных организмов в клетках хозяев.

Figure 2. Simplified diagram of a life cycle fragment from infection of the host cell to the development of multinucleated plasmodium in microsporidia, *Rozella* sp. and aphelids, showing different localization of the organism in infected cells.

Некоторые виды *Rozella*, паразитирующие в гифах хитридиевых грибов, лишены классического клеточного строения, способны индуцировать в них образование септ, благодаря чему в организме хозяина образуется обособленный компартмент, содержащий развивающегося паразита. По мнению авторов (Powell, Letcher, 2019), это

может быть необходимо паразиту для создания тургора внутри зараженной клетки, способствующего выходу зооспор из хозяина. Кроме того, для представителей *Rozella* показаны концентрация митохондрий хозяина вокруг развивающегося паразита и частичная деградация митохондрий самого патогена при внутриклеточном развитии (Powell et al., 2017). Данную особенность можно рассматривать в качестве аргумента в пользу теории о способности видов *Rozella* напрямую поглощать из клетки хозяина АТФ для поддержания собственного развития и размножения, о чем подробнее будет упомянуто в разделе, посвященном метаболизму. Кроме того, в клетках *Rozella* sp., как и у микроспоридий, не были обнаружены характерные для афелид диктиосомы аппарата Гольджи (Powell et al., 2017).

В отличие от *Rozella* spp. и афелид, споры микроспоридий не способны к самостоятельному передвижению и представляют собой упакованные в систему оболочек зародыши со сложно организованным аппаратом экструзии, необходимым для внедрения паразита внутрь инфицируемой клетки. У каноничных микроспоридий этот аппарат обычно состоит из уникальных для данной группы органелл: длинной нитевидной полярной трубки, уложенной спирально, полярного диска и задней вакуоли (Исси, Воронин, 2007). Характерный для большинства видов микроспоридий жизненный цикл включает в себя экструзию полярной трубки из споры паразита, проникновение зародыша в клетку хозяина, рост и размножение патогена, которое чаще всего происходит за счет множественного деления – мерогонии. Затем микроспоридии приступают к спорогонии, в результате чего образуются спорогональные плазмодии, дающие начало споробlastам, в которых происходит формирование спор. Обычно на этом этапе происходит разрушение зараженной клетки хозяина; вышедшие таким образом споры заражают другие клетки того же организма или выводятся наружу для заражения других особей. Заражение многоклеточных животных обычно происходит при попадании спор паразитов в пищеварительный тракт хозяина (Исси, Воронин, 2007). У некоторых микроспоридий жизненный цикл может значительно усложняться, включать в себя мейоз и половой процесс, смену нескольких хозяев, в которых могут образовываться споры разных типов (Симакова, 2014). Клетки микроспоридий лишены жгутиков и их производных, цистерн аппарата Гольджи. Их митохондрии редуцированы до крохотных двухмембранных органелл – митосом, не обладающих собственным геномом (Williams et al., 2002). Микроспоридии также утратили способность к фагоцитозу и везикулярному транспорту.

Споры базальных групп микроспоридий – *Metchnikovellida* и *Chytridiopsida*, а также высших розеллид родов *Nucleophaga*, *Paramicrosporidium*, *Morellospora* и *Mitosporidium* внешне напоминают каноничных микроспоридий, за исключением того, что в спорах данных организмов отсутствует развитый аппарат экструзии. Для них характерно наличие короткой, не образующей витков полярной трубки; в спорах различных видов могут быть также обнаружены отдельные структуры, напоминающие слабо развитые аналоги других элементов аппарата экструзии каноничных микроспоридий (Corsaro et al., 2016; Corsaro et al., 2019; Mikhailov et al., 2017). Важным отличием розеллид, обладающих схожим с микроспоридиями строением споры, от базальных микроспоридий также является наличие функциональных митохондрий, обладающих собственным геномом (Quandt et al., 2017). Кроме того, для данных организмов, по-видимому, характерно множественное деление по типу мерогонии, в то время как у базальных микроспоридий – *Metchnikovellida* и *Chytridiopsida* – такой вид деления не был обнаружен (Corsaro et al., 2019; Galindo et al., 2018).

Как мы уже отмечали во введении к настоящей работе, многочисленные расшифровки геномов каноничных микроспоридий показали их крайнюю редукцию и модификацию, что соотносится с чрезвычайно высокой специализацией этих организмов на морфологическом уровне (Corradi, 2015; Cuomo et al., 2012). Анализ опубликованных в последние годы данных расшифровки геномов розеллид и базальных микроспоридий позволяет проследить, как формировалась данная особенность в эволюции и сопоставить наблюдаемые морфофункциональные и молекулярные различия (James et al., 2013; Galindo et al., 2018; Quandt et al., 2017). Наиболее глубокий анализ геномов розеллид и базальных микроспоридий был произведен авторами расшифровки транскриптома афелиды *Paraphelidium tribonemae*, которые, по нашему мнению, смогли выдвинуть на основании собственных и литературных данных наиболее достоверную гипотезу о ранних этапах эволюции грибов, афелид, розеллид и микроспоридий. Анализ транскриптома *P. tribonemae* продемонстрировал, что данные организмы практически не претерпели редукции и специализации генома и, соответственно, различных функциональных систем, что обычно свойственно внутриклеточным паразитам (Torruella et al., 2018). По генетическому составу они оказались ближе к свободноживущим зооспоровым грибам, чем к розеллидам и микроспоридиям.

Исходя из данных о сестринском положении грибов и афелид, авторы предположили, что последние наиболее близки к гипотетическому предку Opisthosporidia и грибов и сохраняют большую часть черт, характерных для предковой формы. По мнению авторов, такой организм представлял собой свободноживущего хищника, который, возможно, как и афелиды, был приспособлен к эндобиотическому фаготрофному питанию и имел амебофлагеллятную расселительную и покрытую хитином покровную стадию. Эволюционное развитие гипотетического предка грибов, розеллид и микроспоридий в сторону общего предка различных групп грибов заключалось в утрате способности к фагоцитозу и переходе к осмотрофному питанию через клеточную стенку из хитина, которая теперь окружала и вегетативную стадию, в то время как развитие в сторону общего предка розеллид и микроспоридий подразумевало адаптацию к внутриклеточному паразитизму, сопровождающуюся прогрессирующей редукцией и специализацией геномов и различных клеточных систем данных организмов, в том числе утратой подвижных расселительных стадий, способности к фагоцитозу, функциональных митохондрий и т.д. (Torruella et al., 2018).

В данную концепцию логично вписываются описанные выше принципиальные различия тонкого строения и взаимоотношений с клеткой хозяина между афелидами и представителями рода *Rozella*, наблюдаемые при внешнем сходстве жизненных циклов данных организмов. Афелиды, поглощающие клетки своих хозяев «извне» и не вступающие с ними в более глубокие взаимоотношения, являются не настоящими паразитами, а паразитоидами, наиболее близкими по образу жизни к свободноживущему хищному предку, в то время как виды *Rozella*, развивающиеся внутри цитоплазмы зараженных клеток, уже являются полноценными паразитами. И действительно, выполненное ранее секвенирование генома *R. allomycis* показало, что для данного организма характерны признаки редукции и специализации генома и функционального аппарата, выраженные чуть в меньшей степени, чем у микроспоридий и, вероятно, унаследованные от общего эндопаразитарного предка (James et al., 2013).

Сравнительный анализ геномов розеллид и микроспоридий позволяет также проследить утрату последними способности к фагоцитозу и везикулярному транспорту. В геноме у способного к фагоцитозу вида *R. allomycis* есть все необходимые гены

для этого процесса, в том числе белки TOR (белки-мишени для рапамицина) и клатрин (Wadi, Reinke, 2020). В геномах подобных микроспоридиям розеллид *M. daphnia* и *P. saccamoebae* также присутствуют эти гены, хотя способность к фагоцитозу или ее отсутствие не была экспериментально продемонстрирована для данных организмов (Haag et al., 2014; Quandt et al., 2017). У базальных микроспоридий – мечниковеллид, не способных к фагоцитозу, отсутствуют белки TOR, но все еще имеется клатрин, в то время как у всех каноничных микроспоридий все указанные белки отсутствуют (Wadi, Reinke, 2020).

На сегодняшний день доподлинно неизвестно, каким образом в эволюции сформировалось уникальное строение спор микроспоридий. Поскольку жизненный цикл и строение спор и цист афелид и *Rozella* spp. адаптированы к инфицированию организмов, обладающих клеточной стенкой, в первую очередь грибов и водорослей, логично предположить, что формирование характерной для микроспоридий морфологии спор и способа инфицирования связано с освоением нового круга хозяев, клетки которых не обладают выраженной клеточной стенкой. И действительно, микроспоридии поражают практически все группы животных, несколько групп протистов (грегарин, инфузорий и парамиксид), но никогда не встречаются у грибов, высших растений и водорослей (Stentiford et al., 2016, 2017; Yakovleva et al., 2020). Также на сегодняшний день невозможно достоверно определить, какая стадия жизненного цикла *Rozella* spp. может соответствовать спорам микроспоридий. Наиболее очевидным кандидатом является циста, формирующаяся на поверхности хозяйинной клетки и прорастающая внутрь, т.к. данная стадия, как и спора микроспоридий, окружена хитином, а трубку прорастания можно гипотетически считать аналогом полярной трубки микроспоридий. Однако это предположение пока не было подкреплено экспериментальными данными. Также пока неизвестно, является ли структура, напоминающая укороченную полярную трубку у высших розеллид и базальных микроспоридий, аналогом полярной трубки канонических микроспоридий. Неизвестно также, каким именно образом происходит экструзия спор базальных микроспоридий и розеллид и внедрение зародышей этих видов в клетки их хозяев.

Размер и структура генома

Геном микроспоридии *Encephalitozoon intestinalis* имеет размер всего 2.3 млн пар нуклеотидов и кодирует около 1900 белков, что является наименьшим показателем среди эукариот (Corradi et al., 2010). Геном данного организма также демонстрирует беспрецедентный уровень компактизации: белок-кодирующие последовательности составляют более 90 % генома, а промежутки между генами – в среднем 115 пар оснований. Сопоставив данные о размере и структуре геномов разных видов микроспоридий и их ближайших родственников, можно отметить, что тенденция к подобной компактизации является одним из основополагающих трендов их эволюции (табл. 1). К примеру, для генома *R. allomycis* размером около 12 млн пар нуклеотидов, в котором закодировано более 6300 белков, также характерны признаки редукции и компактизации, однако менее выраженные, чем у микроспоридий (James et al., 2013). Геномы высших розеллид *P. saccamoebae* и *M. daphniae*, находящиеся ближе к микроспоридиям на филогенетическом древе, уже значительно более редуцированы, как и у базальных микроспоридий (табл. 1), а наивысшей степени компактизации достигают только каноничные микроспоридии. Хотя для афелид пока отсутствуют геномные данные, анализ транскриптома *P. tribonemae* выявил у данного организма более 10 тыс. потенциальных белок-кодирующих последовательностей (Torruella et al., 2018).

Таблица 1. Размеры геномов некоторых видов розеллид и микроспоридий
Table 1. Genome sizes of some species of Rozellida and Microsporidia

Вид	Размер генома (млн пар нуклеотидов)	Количество белок-кодирующих генов
<i>Rozella allomycis</i>	11.9	6350
<i>Paramicrosporidium saccoebae</i>	7.3	3750
<i>Mitosporidium daphniae</i>	5.6	3330
<i>Amphiamblys</i> sp.	5.6	3642
<i>Metchnikovella incurvata</i>	5.4	2803
<i>Nematocida parisii</i>	4.1	2661
<i>Edhazardia aedis</i> *	51.3	4190
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	3.9	3632
<i>Ordospora colligata</i>	2.3	1820
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	2.2	1938
<i>Nosema bombycis</i> **	15.7	4468

Пр и м е ч а н и я. * Характеризуется сложным жизненным циклом, специфически адаптированным к вертикальной передаче (см. текст).

** Характеризуется высокой эффективностью вертикальной передачи (см. текст).

Однако в наблюдаемую тенденцию компактизации генома видов, лежащих в основании филогенетического древа микроспоридий и родственных им групп, не вписываются многочисленные обнаружения канонических микроспоридий с размером генома, многократно превышающим средние значения для группы. Так, у микроспоридии *Edhazardia aedis* размер генома составляет более 51 млн пар нуклеотидов, а у *Nosema bombycis*, принадлежащей к группе эволюционно продвинутых микроспоридий Terresporidia, – более 15 млн пар оснований (Pan et al., 2013). Таким образом, размер генома в пределах одной группы может различаться более чем в 25 раз.

Развернутая гипотеза, объясняющая данное явление, была выдвинута только в 2020 г. Авторы сопоставили известные геномы различных видов микроспоридий с их образом жизни, а также провели собственное исследование геномов разных видов микроспоридий, паразитирующих в одном и том же хозяине, и пришли к выводу, что на эволюцию генома микроспоридий может сильно влиять структура популяции, в которой существуют данные организмы и которая во многом зависит от характера их распространения (трансмиссии) в популяции хозяев (Naag et al., 2020). По мнению авторов, у микроспоридий, в жизненном цикле которых присутствуют специализированные механизмы вертикальной трансмиссии (передача из поколения в поколение, в частности трансвариальным путем от родителей к потомкам у микроспоридий насекомых), средний размер популяции оказывается значительно снижен, по сравнению с видами, передающимися горизонтально. На такие популяции в гораздо меньшей степени действуют силы естественного отбора, они подвергаются эффектам «дрейфа генов» и «бутылочного горлышка», что значительно увеличивает участие неадаптивных процессов в эволюции данных организмов (de Albuquerque et al., 2020; Naag et al., 2020). У микроспоридий, преимущественно передающихся вертикально за счет специализированных механизмов, в геноме могут накапливаться различные повторяющиеся последовательности ДНК и другие участки, не относящиеся к белок-

кодирующим последовательностям. И действительно, для подавляющего большинства микроспоридий с большим размером генома оказались характерны специализированные механизмы вертикальной трансмиссии, тогда как виды с наиболее компактными геномами передаются преимущественно горизонтально (среди особей одного поколения) (de Albuquerque et al., 2020; Naag et al., 2020).

В геномах различных видов микроспоридий найдено всего около 800 консервативных белков, участвующих в основном в таких процессах, как репликация ДНК, транскрипция и трансляция (Nakjang et al., 2013; Wadi, Reinke 2020). Интересно, что 32 семейства консервативных белков микроспоридий не обнаружены у других эукариот. Некоторые из этих белков функционируют как часть полярной трубки или оболочки споры, но функция большинства из них неизвестна (Nakjang et al., 2013; Wadi, Reinke 2020). Геном микроспоридий крайне вариативен и может содержать сотни уникальных белков, отсутствующих даже у близкородственных видов того же рода (Reinke et al., 2017). Из-за того, что многие белок-кодирующие последовательности микроспоридий, как и их геномы в целом, редуцированы и модифицированы, зачастую простого анализа присутствия или отсутствия у них генов, кодирующих белки, вовлеченные в определенный процесс, недостаточно для определения функционирования этой системы. Согласно результатам недавних исследований редуцированных рибосом микроспоридий, хотя в геноме данных видов сохраняется относительно полный набор рибосомальных белков, два из этих белков больше не являются структурными элементами данных органелл и выполняют в клетках микроспоридий другие функции (Melnikov et al., 2018; Barandun et al., 2019). К примеру, консервативный рибосомальный белок eS31y всех видов микроспоридий утрачивает значительную часть своей аминокислотной последовательности и связь с рибосомами. Однако данная молекула продолжает активно экспрессироваться в клетках микроспоридий и, вероятно, участвует в биосинтезе убиквитина данных организмов. Таким образом, можно сделать вывод, что многие компоненты клеток микроспоридий, которые идентифицируются с помощью автоматической аннотации геномов, могут утрачивать часть своих биологических функций из-за продолжающейся редукции генома данных организмов в эволюции (Melnikov et al., 2018).

Система энергетического метаболизма

Система энергетического обмена микроспоридий демонстрирует наиболее яркий пример их зависимости от хозяев. Некоторые из них полностью утратили способность к самостоятельному синтезу АТФ, всецело полагаясь на метаболическую систему хозяина (Wiredu et al., 2017). В целом, функционирование системы энергетического метаболизма канонических микроспоридий может быть описано следующим образом: (1) не обладая полноценными митохондриями, на стадии внутриклеточного развития эти паразиты получают АТФ, транспортируя его из инфицированных клеток хозяев с помощью уникальных АТФ-переносчиков (NTT translocases), приобретенных ими в результате горизонтального переноса генов от бактерий; и (2) на стадии спор они синтезируют это соединение посредством гликолиза с использованием глицерол-3-фосфатного челнока и альтернативной оксидазы для реокисления восстановительных эквивалентов, образующихся в ходе данного процесса (Williams et al., 2010). Эволюционно продвинутые микроспоридии из группы *Terresporidia* утрачивают альтернативную оксидазу и приобретают некий новый, на сегодняшний день не изученный механизм для поддержания гликолиза (Timofeev et al., 2020). Некоторые представители этой

группы также утрачивают способность к гликолизу и, по всей видимости, адаптируются к АТФ-независимому существованию на стадии споры и инфицированию хозяина (Keeling et al., 2010; Wiredu et al., 2017).

У мечниковеллид – базальных микроспоридий – также отсутствуют митохондрии и, соответственно, способность к окислительному фосфорилированию. Кроме того, у этих паразитов не обнаружена альтернативная оксидаза и характерные для других микроспоридий АТФ-переносчики. По всей видимости, данные организмы могут синтезировать АТФ за счет гликолиза, используя пока не известный механизм его поддержания. Авторы расшифровки геномов *Amphiamblys* sp. и *Metchnikovella incurvata* предполагают, что на стадии внутриклеточного развития мечниковеллиды, как и высшие микроспоридии, могут транспортировать из клетки хозяина АТФ, но используют для этого переносчики другого типа (MCF) (Mikhailov et al., 2017; Galindo et al., 2018), однако эта особенность еще не была подтверждена экспериментально.

Все представители розеллид обладают функциональными митохондриями и способностью к окислительному фосфорилированию (у *P. saccamoebae* эти органеллы еще не были выявлены морфологически; имеются данные только о митохондриальном геноме). У различных представителей группы может наблюдаться незначительная редукция данных органелл, которая, по всей видимости, происходит у разных видов независимо и заключается в утрате ими комплекса I окислительного фосфорилирования (James et al., 2013; Haag et al., 2014; Quandt et al., 2017). Интересно, что только у наиболее базального вида данной группы, *Rozella* sp., но не у других близкородственных микроспоридиям паразитов, были обнаружены подобные микроспоридиальным АТФ-переносчики, способные напрямую транспортировать АТФ из зараженной клетки хозяина (Dean et al., 2018). Данный факт можно объяснить тем, что эти переносчики могли быть приобретены независимо представителями рода *Rozella* sp. и каноническими микроспоридиями. Однако согласно исследованиям структуры и функций данных транспортеров, более вероятны их приобретение розеллидами и микроспоридиями от общего предка, и последующая утрата высшими розеллидами и базальными микроспоридиями (Heinz et al., 2014; Dean et al., 2018). Косвенным подтверждением этой гипотезы стало недавнее обнаружение нового семейства транспортеров АТФ (MFS transporters) в геномах у всех розеллид и микроспоридий и демонстрация потенциальной способности этих транспортеров работать аналогично АТФ-переносчикам (NTT translocases), т. е. участвовать в транспорте АТФ из клеток хозяев, зараженных этими паразитами (Major et al., 2019).

Собрав воедино представленные выше данные, можно выстроить краткое описание гипотетического эволюционного пути микроспоридий, в результате которого они стали экстремально специализированными внутриклеточными паразитами. Общий предок микроспоридий и грибов, вероятно, был свободноживущим эндобиотическим хищником или паразитоидом, который поражал организмы с выраженной клеточной стенкой и обладал амебофлагеллярной расселительной стадией. Этот организм имел полноценные, не редуцированные геном и систему энергетического метаболизма и по всем характеристикам, вероятно, был близок к современным афелидам. В дальнейшем данные организмы постепенно стали вступать в более тонкие взаимодействия с клетками хозяев и в какой-то момент перешли от простого поедания содержимого зараженных клеток к внутриклеточному паразитированию. На этом этапе начинается процесс редукции генома и функционального аппарата этих организмов, который до-

стиг своей высшей степени уже у самих микроспоридий. Важным этапом эволюции предков микроспоридий на этой стадии было приобретение ими уникальных АТФ-переносчиков, способных напрямую транспортировать данное соединение из клеток хозяина. Такие организмы больше зависели от своих хозяев, но все еще сохраняли митохондрии и способность к окислительному фосфорилированию. Наиболее близкими к такому предковому состоянию являются современные представители рода *Rozella*. На следующем этапе произошло резкое изменение морфологии расселительной стадии, с утратой жгутикового аппарата и ее превращением в неподвижную спору, обладающую специализированным аппаратом экструзии, что, вероятнее всего, могло быть связано с освоением нового круга хозяев – предков животных и простейших, не обладающих выраженной клеточной стенкой. На этом этапе редукция и специализация геномов данных организмов уже достигла беспрецедентной для других эукариот степени, однако они все еще сохраняли функциональные митохондрии и не достигли высшей степени зависимости от своих хозяев. Наиболее близки к такому предковому состоянию высшие розеллиды – *Paramicrosporidium*, *Mitosporidium* и др. Степень зависимости предков микроспоридий от их хозяев все возрастала и в какой-то момент их митохондрии были редуцированы до митосом, неспособных к синтезу АТФ. Близкими к такому состоянию являются современные базальные микроспоридии. И, наконец, максимальную степень редукции и специализации генома, значительное усложнение и совершенствование аппарата экструзии спор, а также полную утрату собственной системы энергетического метаболизма мы можем наблюдать у различных видов каноничных микроспоридий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику ФГБНУ ВИЗР (Санкт-Петербург, Пушкин, Россия) Юрию Сергеевичу Токареву за критическую оценку и правку рукописи статьи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-14-50132.

Acknowledgements: The reported study was funded by RFBR, project number 19-14-50132.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исси И.В., Воронин В.Н. 2007. Тип Microsporidia. В кн.: Алимов А.Ф. (гл. ред.). Протисты: Руководство по зоологии, ч. 2. СПб, Наука, 994–1045.
- Симакова А.В. 2014. Сравнение таксономической значимости морфологических и молекулярно-генетических признаков в систематике микроспоридий (Microsporidia) кровососущих комаров (Diptera: Culicidae). Паразитология 48 (4): 284–301.
- Тимофеев С.А. 2015. Современные представления о микроспориidioзе человека. Вестник РАМН 70 (2): 257–263.
- Токарев Ю.С., Симакова А.В., Тимофеев С.А., Малыш Ю.М., Соколова О.И., Исси И.В. 2016. Гостальная специфичность микроспоридий. Паразитология 50 (6): 446–459.
- Adl S.M., Bass D., Lane C.E., Lukeš J., Schoch C.L., Smirnov A., Agatha S., Berney C., Brown M.W., Burki F., Cárdenas P., Čepička I., Chistyakova L., delCampo J., Dunthorn M., Edvardsen B., Eglit Y., Guillou L., Hampl V., Heiss A.A., Hoppenrath M., James T.Y., Karmowska A., Karpov S., Kim E., Kolisko M., Kudryavtsev A., Lahr D.J., Lara E., LeGall L., Lynn D.H., Mann D.G., Massana R., Mitchell E.A., Morrow S., Park J.S., Pawlowski J.W., Powell M.J., Richter D.J., Rueckert S., Shadwick L., Shimano S., Spiegel F.W., Torruella G., Youssef N., Zlatogursky V., Zhang Q. 2019. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of Eukaryotes. Journal of Eukaryotic Microbiology 66: 4–119.

- Alexander W.G., Wisecaver J.H., Rokas A., Hittinger C.T. 2016. Horizontally acquired genes in early-diverging pathogenic fungi enable the use of host nucleosides and nucleotides. *PNAS* 113: 4116–4121.
- Barandun J., Hunziker M., Vossbrink C.R., Klinge S. 2019. Evolutionary compaction and adaptation visualized by the structure of the dormant microsporidian ribosome. *Nature Microbiology* 4: 1798–1804.
- Bass D., Czech L., Williams B.A., Edric Berney C., Dunthorn M., Mah E.G., Torruella G.E., Stentiford G.D., Williams T.A. 2018. Clarifying the relationships between Microsporidia and Cryptomycota. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 65: 773–782.
- Capella-Gutiérrez S., Marcet-Houben M., Gabaldón T. 2012. Phylogenomics supports microsporidia as the earliest diverging clade of sequenced fungi. *BMC Biology* 10: 47.
- Corradi N. 2015. Microsporidia: eukaryotic intracellular parasites shaped by gene loss and horizontal gene transfers. *Annual Review of Microbiology* 69: 167–183.
- Corradi N., Pombert J.-F., Farinelli L., Didier E.S., Keeling P.J. 2010. The complete sequence of the smallest known nuclear genome from the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Nature Communications* 1: 77.
- Corsaro D., Michel R., Walochnik J., Venditti D., Müller K.-D., Hauröder B., Wylezich C. 2016. Molecular identification of *Nucleophaga terricolae* sp. nov. (Rozellomycota), and new insights on the origin of the Microsporidia. *Parasitology Research* 115 (8): 3003–3011.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Müller K.D., Hauröder B., Michel R. 2014. Rediscovery of *Nucleophaga amoebae*, a novel member of the Rozellomycota. *Parasitology Research* 113: 4491–4498.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Steinmann J., Müller K.D., Michel R. 2014a. Microsporidia-like parasites of amoebae belong to the early fungal lineage rozellomycota. *Parasitology Research* 113: 1909–1918.
- Corsaro D., Wylezich C., Venditti D., Michel R., Walochnik J., Wegensteiner R. 2019. Filling gaps in the microsporidian tree: rDNA phylogeny of *Chytridiopsis typographi* (Microsporidia: Chytridiopsida). *Parasitology Research* 118: 169–180.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Hauröder B., Michel R. 2020. Solving an old enigma: *Morellospora saccamoebae* gen. nov., sp. nov. (Rozellomycota), a Sphaerita-like parasite of free-living amoebae. *Parasitology Research* 119: 925–934.
- Cuomo C.A., Desjardins C.A., Bakowski M.A., Goldberg J., Ma A.T., Becnel J.J., Didier E.S., Fan L., Heiman D.I., Levin J.Z., Young S., Zeng Q., Troemel E.R. 2012. Microsporidian genome analysis reveals evolutionary strategies for obligate intracellular growth. *Genome Research* 22: 2478–2488.
- de Albuquerque N.R.M., Ebert D., Haag K.L. 2020. Transposable element abundance correlates with mode of transmission in microsporidian parasites. *Mobile DNA* 11: 19.
- Dean P., Sendra K.M., Williams T.A., Watson A.K., Major P., Nakjang S., Kozhevnikova E., Goldberg A.V., Kunji E.R.S., Hirt R.P., Embley T.M. 2018. Transporter gene acquisition and innovation in the evolution of Microsporidia intracellular parasites. *Nature Communications* 9 (1): 1–12.
- Dean P., Hirt R.P., Embley T.M. 2016. Microsporidia: why make nucleotides if you can steal them? *PLOS Pathogens* 12: e1005870
- Dolgikh V.V., Senderskiy I.V., Pavlova O.A., Naumov A.M. and Beznoussenko G.V. 2011. Immunolocalization of an alternative respiratory chain in *Antonospora (Paranosema) locustae* spores: mitochondria retain their role in microsporidian energy metabolism. *Eukaryotic Cell* 10: 588–593.
- Galindo L.J., Torruella G., Moreira D., Timpano H., Paskerova G., Smirnov A., Nasonova E., López-García P. 2018. Evolutionary genomics of *Metchnikovella incurvata* (Metchnikovellidae): An early branching Microsporidium. *Genome Biology and Evolution* 10: 2736–2748.
- Gromov B.V. 2000. Algal parasites of the genera *Aphelidium*, *Amoebophilidium*, and *Pseudaphelidium* from the Cienkovski's "monadinea" group as representatives of a new class. *Zoologicheskij Zhurnal* 79: 517–525.
- Heinz E., Hacker C., Dean P., Mifsud J., Goldberg A.V., Williams T.A., Nakjang S., Gregory A., Hirt R.P., Lucocq J.M. 2014. Plasma membrane-located purine nucleotide transport proteins are key components for host exploitation by microsporidian intracellular parasites. *PLOS Pathogens* 10: e1004547
- Haag K.L., Pombert J.-F., Sun Y., de Albuquerque N.R.M., Batliner B., Fields P., Lopes T.F., Ebert D. 2020. Microsporidia with vertical transmission were likely shaped by nonadaptive processes. *Genome Biology and Evolution* 12: 3599–3614.
- Haag K.L., James T.Y., Pombert J.F., Larsson R., Schaer T.M., Refardt D., Ebert D. 2014. Evolution of a morphological novelty occurred before genome compaction in a lineage of extreme parasites. *PNAS* 111: 15480–15485.
- Hirt R.P., Logsdon J.M., Jr, Healy B., Dorey M.W., Doolittle W.F., Embley T.M. 1999. Microsporidia are related to Fungi: evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins. *PNAS* 96: 580–585.
- James T.Y., Pelin A., Bonen L., Ahrendt S., Sain D., Corradi N., Stajich J.E. 2013. Shared signatures of parasitism and phylogenomics unite cryptomycota and microsporidia. *Current Biology* 23: 1548–1553.

- Jones M.D.M., Forn I., Gadelha C., Egan M.J., Bass D., Massana R., Richards T.A. 2011. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature* 474: 200–203.
- Karpov S.A., Mamkaeva M.A., Aleoshin V.V., Nassonova E., Lilje O., Gleason F.H. 2014. Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. *Frontiers in Microbiology* 5: 1–11.
- Karpov S.A., Mikhailov K.V., Mirzaeva G.S., Mirabdullaev I.M., Mamkaeva K.A., Titova N.N., Aleoshin V.V. 2013. Obligately phagotrophic aphelids turned out to branch with the earliest-diverging fungi. *Protist* 164: 195–205.
- Karpov S.A., Torruella G., Moreira D., Mamkaeva M.A., López-García P. 2017. Molecular phylogeny of *Paraphelidium letcheri* sp. nov. (Aphelida, Opisthosporidia). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 64: 573–578.
- Keeling P.J., Luker M.A., Palmer J.D. 2000. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution* 17: 23–31.
- Keeling P.J., Corradi N., Morrison H.G., Haag K.L., Ebert D., Weiss L.M., Akiyoshi D.E., Tzipori S. 2010. The reduced genome of the parasitic microsporidian *Enterocytozoon bieneusi* lacks genes for core carbon metabolism. *Genome Biology and Evolution* 2: 304–309.
- Lara E., Moreira D., López-García P. 2010. The environmental clade LKM11 and *Rozella* form the deepest branching clade of fungi. *Protist* 161: 116–121.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2018. A taxonomic summary and revision of *Rozella* (Cryptomycota). *IMA Fungus* 9: 383–399.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2019. A taxonomic summary of Aphelidiaceae. *IMA Fungus* 1 (1): 4.
- Major P., Sendra K.M., Dean P., Williams T.A., Watson A.K., Thwaites D.T., Embley T.M., Hirt R.P. 2019. A new family of cell surface located purine transporters in microsporidia and related fungal endoparasites. *eLife* 8: e47037
- Martin-Hernández R., Bartolomé C., Chejanovsky N., Le Conte, Y., Dalmon A., Dussaubat C., García-Palencia P., Meana A., Pinto M.A., Soroker V., Higes M. 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years post-detection perspective. *Environmental Microbiology* 20 (4): 1302–1329.
- Mikhailov K.V., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V. 2017. Genomic survey of a hyperparasitic microsporidian *Amphiambllys* sp. (Metchnikovellidae). *Genome Biology and Evolution* 9: 454–467.
- Melnikov S.V., Manakongtreecheep K., Rivera K.D., Makarenko A., Pappin D.J., Soll D. 2018. Muller's ratchet and ribosome degeneration in the obligate intracellular parasites Microsporidia. *International Journal of Molecular Sciences* 19 (12): 4125.
- Nakjang S., Williams T.A., Heinz E., Watson A.K., Foster P.G., Sendra K.M., Heaps S.E., Hirt R.P., Embley T.M. 2013. Reduction and expansion in microsporidian genome evolution: new insights from comparative genomics. *Genome Biology and Evolution* 5: 2285–2303.
- Powell M.J., Letcher P.M., James T.Y. 2017. Ultrastructural characterization of the host-parasite interface between *Allomyces anomalus* (Blastocladiomycota) and *Rozella allomycis* (Cryptomycota). *Fungal Biology* 121: 561–572.
- Powell M.J., Letcher P.M. 2019. Ultrastructure of early stages of *Rozella allomycis* (Cryptomycota) infection of its host, *Allomyces macrogynus* (Blastocladiomycota). *Fungal Biology* 123 (2): 109–116.
- Pan G., Xu J., Li T., Xia Q., Liu S.L., Zhang G., Li S., Li C., Liu H., Yang L., Liu T., Zhang X., Wu, Z., Fan W., Dang X., Xiang H., Tao M., Li Y., Hu J., Li Z., Lin L., Luo J., Geng L., Wang L., Long M., Wan Y., He N., Zhang Z., Lu C., Keeling P.J., Wang J., Xiang Z., Zhou Z. 2013. Comparative genomics of parasitic silkworm microsporidia reveal an association between genome expansion and host adaptation. *BMC Genomics* 14: 186.
- Quandt C.A., Beaudet D., Corsaro D., Walochnik J., Michel R., Corradi N., James T.Y. 2017. The genome of an intranuclear parasite, *Paramicrosporidium saccamoebae*, reveals alternative adaptations to obligate intracellular parasitism. *eLife* 6: e29594
- Reinke A.W., Balla K.M., Bennett E.J., Troemel E.R. 2017. Identification of microsporidia host-exposed proteins reveals a repertoire of rapidly evolving proteins. *Nature Communications* 8: 14023.
- Seto K., Matsuzawa T., Kuno H., Kagami M. 2020. Morphology, ultrastructure, and molecular phylogeny of *Aphelidium collabens* sp. nov. (Aphelida), a parasitoid of a green alga *Coccomyxa* sp. *Protist* 171: 125728.
- Stentiford G.D., Beemel J., Weiss L.M., Keeling P.J., Didier E.S., Williams B.P., Bjornson S., Kent M.L., Freeman M.A., Brown M.J.F., Troemel E.R., Roedel K., Sokolova Y., Snowden K.F., Solter L. 2016. Microsporidia – Emergent pathogens in the global food chain. *Trends in Parasitology* 32: 336–348.
- Stentiford G.D., Ramilo A., Abollo E., Kerr R., Bateman K.S., Feist S.W., Bass D., Villalba A. 2017. *Hyperspora aquatica* n. gen., n. sp. (Microsporidia), hyperparasitic in *Marteilia cochillia* (Paramyxida), is closely related to crustacean-infecting microsporidian taxa. *Parasitology* 144 (2): 186–199.
- Tedersoo L., Sánchez-Ramírez S., Kõljalg U., Bahram M., Döring M., Schigel D., May T., Ryberg M., Abarenkov K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity* 90: 135–159.

- Timofeev S., Tokarev Y., Dolgikh V. 2020. Energy metabolism and its evolution in Microsporidia and allied taxa. *Parasitology Research* 119 (5): 1433–1441.
- Torruella G., Grau-Bové X., Moreira D., Karpov S.A., Burns J.A., Sebé-Pedrós A., Völcker E., López-García P. 2018. Global transcriptome analysis of the aphelid *Paraphelidium tribonemae* supports the phagotrophic origin of fungi. *Communications Biology* 1: 231.
- Tsaousis A.D., Kunji E.R., Goldberg A.V., Lucocq J.M., Hirt R.P., Embley T.M. 2008. A novel route for ATP acquisition by the remnant mitochondria of *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 453: 553–556.
- Wadi L., Reinke A.W. 2020. Evolution of microsporidia: An extremely successful group of eukaryotic intracellular parasites. *PLOS Pathogens* 16(2): e1008276
- Williams B.A., Elliot C., Burri L., Kido Y., Kita K., Moore A.L., Keeling P.J. 2010. A broad distribution of the alternative oxidase in microsporidian parasites. *PLOS Pathogens* 6: e1000761
- Williams B.A., Hirt R.P., Lucocq J.M., Embley T.M. 2002. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature* 418: 865–869.
- Wiredu B.D., Jaroenlak P., Prachumwat A., Williams T.A., Bateman K.S., Itsathitphaisarn O., Sritunyalucksana K., Paszkiewicz K.H., Moore K.A., Stentiford G.D., Williams B.A. 2017. Decay of the glycolytic pathway and adaptation to intranuclear parasitism within Enterocytozoonidae microsporidia. *Environmental Microbiology* 19: 2077–2089.
- Yakovleva Y., Nassonova E., Lebedeva N., Lanzoni O., Petroni G., Potekhin A., Sabaneyeva E. 2020. The first case of microsporidiosis in *Paramecium*. *Parasitology* 147 (9): 957–971.

MICROSPORIDIA AND THEIR CLOSEST RELATIVES: CURRENT IDEAS ABOUT THE EVOLUTION OF A UNIQUE GROUP OF EXTREME PARASITES

S. A. Timofeev, I. V. Senderskiy, V. S. Zhuravlev, V. V. Dolgikh

Key words: Microsporidia, Aphelida, Cryptomycota, intracellular parasites, evolution

SUMMARY

This review presents modern ideas about the evolution and phylogeny of a group of obligate intracellular eukaryotic parasites – the Microsporidia. In the process of adaptation to the intracellular parasitism, the genome and functional apparatus of these organisms was significantly reduced and modified. The systematic position of this group remained unclear for a long time, and it was not known for certain how the evolution of microsporidia occurred, when and how they acquired their unique adaptations to the parasitic lifestyle. A real breakthrough in the study of the evolution of microsporidia has been made only in the last few years. The groups that occupy the position closest to microsporidia on the tree of life were found and described: Cryptomycota (Rozellida) and Aphelida. Sequencing of the genomes of representatives of these groups, which also belong to intracellular parasites, and the first genomic data on the representatives of the basal branches of microsporidia obtained in 2013–2020, made it possible to take a fresh look at the evolution of microsporidia and their closest relatives, to find intermediate forms on the way to adaptation to intracellular parasitism.