

MNOHONÁSOBNÉ NEZÁVISLÉ STRATY SCHOPNOSTI FOTOSYNTÉZY V EVOLÚCII EUKARYOTOV A METABOLIZMUS NEFOTOSYNTETICKÝCH PLASTIDOV

ALEXANDRA LUKÁČOVÁ a MATEJ VESTEG

Katedra biológie a ekológie, Fakulta prírodných vied,
Univerzita Mateja Bela, Tajovského 40, 974 01 Banská
Bystrica
alexandra.lukacova@umb.sk

Došlo 30.11.20, prepracované 29.11.21, prijaté 8.12.21.

Kľúčové slová: plastidový genóm, kryptické organely, fotosynteticky neaktívne plastidy, esenciálne metabolické dráhy

• <https://doi.org/10.54779/chl20220316>

Obsah

1. Úvod
2. Nefotosyntetickí zástupcovia skupiny Archaeplastida
 - 2.1. Nefotosyntetické červené riasy
 - 2.2. Rod *Rhodolphis*
 - 2.3. Nefotosyntetické zelené riasy
 - 2.4. Nefotosyntetické suchozemské rastliny
3. Nefotosyntetické komplexné plastidy
 - 3.1. Alveolata
 - 3.2. Stramenopiles
 - 3.3. Cryptophyta
 - 3.4. Euglenophyta
4. Záver

1. Úvod

Plastidy, resp. chloroplasty sú eukaryotické organely, ktorých základnou funkciou je zvyčajne fotosyntéza. Podľa počtu membrán, ktoré plastidy obaľujú, a podľa ich evolučného pôvodu rozlišujeme primárne a komplexné (sekundárne, prípadne až terciárne) plastidy.

Primárne plastidy skupiny Archaeplastida zahrňujúcej Glaucophyta, Rhodophyta (červené riasy) a Chloroplastida (zelené riasy a suchozemské rastliny)¹ sú obalené dvomi membránami a vznikli v procese primárnej endosymbiózy z cyanobaktérií (siníc) približne pred 1–2 miliardami rokov². Počas konverzie endosymbiotickej sinice na primárny plastid dochádzalo k endosymbiotickému génovému transferu (EGT) zo sinice do jadra hostiteľskej bunky, s čím súvisel aj vznik aparátu pre import proteínov kódo-

vaných jadrom do plastidu³. Súčasnú primárnu plastidu preto disponujú už len redukovanou verziou pôvodného cyanobaktériového genómu. Zatiaľ čo genómy voľne žijúcich siníc kódujú prinajmenšom 1500 proteínov, plastidové genómy ich kódujú v priemere len 60–200 (cit.⁴).

Komplexné plastidy sú ohraničené tromi alebo štyrmi membránami. Väčšina komplexných plastidov vznikla pravdepodobne procesom sekundárnej endosymbiózy z červených alebo zelených rias, ktoré už obsahovali primárne plastidy. V niektorých prípadoch však nemožno vylúčiť aj terciárny pôvod komplexných plastidov z línií už obsahujúcich sekundárne plastidy. Komplexné plastidy skupín Stramenopiles, Haptophyta, Cryptophyta (ohraničené štyrmi membránami) a Alveolata (ohraničené zvyčajne tromi alebo štyrmi membránami) vznikli z červených rias, prípadne z organizmov už obsahujúcich sekundárne plastidy pôvodom z červených rias⁵. Komplexné chloroplasty pôvodom zo zelených rias ohraničené tromi membránami sú typické pre Euglenophyta zo skupiny Discoba, zatiaľ čo zelené plastidy Chlorarachniophyta zo skupiny Rhizaria sú obalené štyrmi membránami. Kým plastidový genóm endosymbiotickej riasy ostáva u väčšiny komplexných plastidov zachovaný, jadro podlieha spravidla úplnej redukcii. Výnimku predstavujú Cryptophyta a Chlorarachniophyta, u ktorých je zvyšok jadra endosymbionta zachovaný medzi druhou a tretou membránou komplexného plastidu vo forme rudimentárneho jadra, tzv. nukleomorfu⁶.

Hoci je základnou funkciou väčšiny plastidov fotosyntéza, v niektorých líniách bola fotosyntetická funkcia plastidov čiastočne alebo úplne redukovaná, čo viedlo aj k ich štruktúrnej redukcii. Keďže značne redukované plastidy nebolo v minulosti jednoduché identifikovať, získali prívlastok „kryptické“⁵. Nefotosyntetické plastidy sa vyskytujú u rôznych línií eukaryotov pomerne často, ale na rozdiel od redukovaných mitochondrií sú ich genómy a ribozómy cyanobaktériálneho pôvodu až na niekoľko výnimiek zachované^{5,7}. V nefotosyntetických plastidoch spravidla prebiehajú viaceré esenciálne biochemické dráhy, ako je biosyntéza aminokyselín, mastných kyselín, izoprenoidov a kofaktorov ako napr. Fe-S centier (klastrov) a hému^{5,8}. Vo viacerých prípadoch sú do týchto metabolických dráh zapojené niektoré proteíny kódované plastidovými genómami, ktoré sa z tohto dôvodu nemôžu stratit⁵.

U niektorých organizmov však ostáva zachovaný len plastidový kompartment bez genómu a v prípade niektorých zástupcov zo skupiny Alveolata došlo dokonca pravdepodobne k úplnej strate plastidov⁵.

2. Nefotosyntetickí zástupcovia skupiny Archaeplastida

Drvivá väčšina zástupcov skupiny Archaeplastida má fotosyntetické primárne plastidy obalené dvomi membránami pôvodom zo siníc. K strate schopnosti fotosyntézy a redukcii plastidov však došlo u viacerých zástupcov červených a zelených rias, suchozemských rastlín⁵, ako aj u rodu *Rhodolphis*, ktorý je pravdepodobne sesterskou líniou červených rias⁹.

2.1. Nefotosyntetické červené riasy

Strata schopnosti fotosyntetizovať nastala u rôznych línií červených rias v evolúcii minimálne stokrát a je spojená najmä s parazitizmom na iných viac alebo menej príbuzných červených riasach^{10,11}. Príčina zachovania fotosynteticky neaktívnych plastidov u parazitických červených rias a ich funkcia nie je doposiaľ u väčšiny z nich uspokojivo objasnená. Príkladom parazitickej červenej riasy s nefotosyntetickými plastidmi je *Choreocolax polysiphoniae*. Táto riasa je parazitom inej červenej riasy *Vertebrata lanosa*. Predpokladá sa, že plastidy *C. polysiphoniae* by mohli zabezpečovať biosyntézu mastných kyselín, aminokyselín, izoprénu a Fe-S klastrov. V plastidovom genóme tejto riasy je zachovaný len jediný fotosyntetický gén *petF* kódujúci feredoxín, ktorý pravdepodobne slúži ako donor elektrónov v rôznych metabolických dráhach¹².

2.2. Rod *Rhodolphis*

V nedávnej štúdií uverejnenej v časopise Nature v roku 2019 bol popísaný nový jednobunkový rod *Rhodolphis* s dvomi známymi druhmi *R. limneticus* a *R. marinus*, ktorý je na základe fylogenomických analýz sesterskou líniou červených rias⁹. Na rozdiel od väčšiny červených rias sú zástupcovia rodu *Rhodolphis* fotosynteticky neaktívni predátori s dvomi bičkami požierajúci iné mikroorganizmy. Disponujú primárnymi plastidmi, ktoré neobsahujú chlorofyl ani plastidový genóm, ale pravdepodobne zohrávajú významnú úlohu v biosyntéze Fe-S klastrov a hému. Pri syntéze Fe-S centier zrejme zohráva kľúčovú úlohu aj feredoxín a feredoxín-NADP⁺ reduktáza, tzv. feredoxínový redoxný systém (tab. I). Závěry z tejto štúdie naznačujú, že spoločný predok červených rias a rodu *Rhodolphis* (a zrejme aj celej skupiny Archaeplastida) bol pravdepodobne mixotrofný bičkovec schopný vyživovať sa autotrofne fotosyntézou, ale aj heterotrofne fagotrofiou. Väčšina odborníkov pritom ešte donedávna predpokladala, že schopnosť fagocytózy sa stratila už u predchodcu skupiny Archaeplastida hneď po udomácnení endosymbiotickej sinice a jej premene na primárny plastid⁹.

2.3. Nefotosyntetické zelené riasy

Kryptický nefotosyntetický plastid bol zachovaný napr. u parazitickej zelenej riasy *Helicosporidium* sp. a voľne žijúceho oportunistického patogéna *Prototheca*

wickerhamii, ktorý je blízko príbuzný mixotrofnej zelenej riasy *Auxenochlorella protothecoides*¹³. Redukovaný plastidový genóm *Helicosporidium* sp. nekóduje žiadne fotosyntetické gény, ale v jadrovom genóme nachádzame fotosyntetické gény kódujúce enzýmy Calvinovho cyklu s výnimkou ribulózy-1,5-bisfosfát-karboxylázy/oxygenázy (Rubisco). V stróme plastidu *Helicosporidium* sp. prebieha pravdepodobne syntéza aminokyselín, mastných kyselín, tetrapyrolov (resp. hému) a terpenoidov (resp. izoprenoidov) (tab. I), pričom v lumene tylakoidov prebieha zrejme syntéza škrobu¹⁴. Do plastidov je importovaný aj feredoxín¹⁵. V porovnaní s *Helicosporidium* sp. je metabolizmus plastidov *P. wickerhamii* o niečo komplexnejší. Prebieha tu syntéza väčšieho počtu aminokyselín, purínov a pravdepodobne aj viacero oxidačno-redukčných procesov, keďže do plastidov sú zrejme importované proteíny ako feredoxín a thioredoxín¹⁶.

Fotosynteticky neaktívne plastidy s genómom a funkčnými ribozómami sú zachované aj u voľne žijúcich zelených rias *Polytoma obtusum* a *Polytoma uvella*. V plastidovom genóme *P. uvella* došlo k akumulácii nekódujúcich oblastí, intrónov a medzigénových repetícií, preto je momentálne najväčším plastidovým genómom (230 kb) so známou sekvenciou spomedzi nefotosyntetických organizmov¹⁷.

Úplná strata plastidového genómu bola donedávna považovaná za nepravdepodobnú, keďže viaceré gény kódované plastidovým genómom sú spravidla pre nefotosyntetické organizmy s plastidmi esenciálne pre prežitie⁵. V súčasnosti je však známe, že k úplnej strate plastidového genómu došlo u štyroch zástupcov zelených rias rodu *Polytomella* (napr. *Polytomella parva*)⁷. Plastidy tohto zástupcu majú funkciu napr. v syntéze a degradácii škrobu, aminokyselín a lipidov, v syntéze tetrapyrolov, terpenoidov a Fe-S klastrov a v udržiavaní redoxnej homeostázy¹⁸. Rovnaké dráhy sú pravdepodobne prítomné aj u ostatných druhov tohto rodu (tab. I).

2.4. Nefotosyntetické suchozemské rastliny

K viacnásobnej nezávislej strate schopnosti fotosyntézy došlo v rámci niekoľkých línií krytosemenných rastlín a u epiparazitickej pečenevky *Aneura mirabilis*, ktorej plastidový genóm obsahuje aj gén *rbcL* kódujúci veľkú podjednotku enzýmu Rubisco¹⁹. Stupeň redukcie plastidového genómu varíruje u rôznych druhov rastlín, no až na jednu známu výnimku ostáva plastidový genóm vždy zachovaný. Nefotosyntetickým parazitickým magnoliidom (bazálna skupina krytosemenných rastlín) je *Hydnora visseri*. Strata fotosyntézy je pomerne častá aj u mykoheterotrofných (na hubách parazitujúcich) jednoklíčnolistových krytosemenných rastlín. K dispozícii sú kompletne sekvencie plastidového genómu *Petrosavia stellaris* (Petrosaviales), *Sciaphila densiflora* (Pandanales), *Thismia tentaculata* (Dioscoreales) a nefotosyntetických orchideí *Epipogium aphyllum*, *Epipogium roseum*, *Rhizanthella gardneri* a *Corralorhiza striata* var. *vreelandii*. Medzi nefotosyntetické dvojklíčnolistové krytosemenné rastliny patria napr. parazity bôbovitých rastlín *Pilostyles aethiopi-*

ca a *Pilostyles hamiltonii* z radu Cucurbitales, ako aj *Monotropa uniflora* a *Monotropa hypopitys* (synonymum *Hypopitys monotropa*) z radu Ericales. U parazitického rodu *Cuscuta* z radu Solanales je stupeň schopnosti fotosyntézy variabilný v závislosti od druhu a stupňa redukcie jeho plastidového genómu. K nefotosyntetickým zástupcom čeľade Orobanchaceae (Lamiales) patrí napr. *Lathraea squamaria*, *Epifagus virginiana* a *Cistanche deserticola*⁵.

Väčšina suchozemských nefotosyntetizujúcich rastlín a zelených rias má v plastidovom genóme zachovaný gén *accD*. Tento gén kóduje podjednotku acetyl-CoA karboxylázy, ktorá sa podieľa na esenciálnej syntéze mastných kyselín⁵. Napr. v plastidoch mykoheterotrofnej rastliny *M. hypopitys* prebieha popri syntéze mastných kyselín, aj syntéza hému, Fe-S klastrov, izoprenoidov a prítomný je aj feredoxín/feredoxínový redoxný systém¹⁵ (tab. I). Plastidy viacerých nefotosyntetizujúcich rastlín by mohli zohrávať úlohu v degradácii proteínov⁵.

Jedinou známou suchozemskou rastlinou, ktorá pravdepodobne úplne stratila plastidový genóm, pričom plastidový kompartment zostal zachovaný, je *Rafflesia lagascae*²⁰. Funkcia plastidu *R. lagascae* nie je presne známa, no analýza jadrového transkriptómu u príbuzného druhu *Rafflesia cantleyi* naznačila, že do plastidu sú importované proteíny zahrnuté v syntéze hému, terpenoidov, lipidov a aminokyselín²¹.

3. Nefotosyntetické komplexné plastidy

V rámci skupín obsahujúcich komplexné plastidy s niekoľkými (3–4) obalovými membránami pôvodom zo zelených alebo červených rias došlo tiež k viacnásobným nezávislým stratám fotosyntézy a k redukcii plastidov. Takéto prípady sú dobre zdokumentované pre niektoré taxóny zo skupín Alveolata, Stramenopiles, Cryptophyta a Euglenophyta. Menej preštudovaní sú nefotosyntetickí zástupcovia zo skupiny Haptophyta (napr. rody *Balaniger*, *Pappomonas* a *Papposphaera*)²².

3.1. Alveolata

V rámci skupiny Alveolata obsahujú fotosyntetické komplexné plastidy druhy rodov *Chromera* a *Vitrella* a aj mnohí zástupcovia z taxónu Dinoflagellata, v rámci ktorého sú však známi aj nefotosyntetickí zástupcovia. Nefotosyntetické komplexné plastidy nachádzame u väčšiny druhov zo skupiny Apicomplexa, u zástupcov taxónu Colpodellida, u bazálnych línií skupiny Dinoflagellata, akými sú rody *Oxyrrhis* alebo *Noctiluca*, ale aj u sesterskej línie dinoflagelát – Perkinsozoa (rod *Perkinsus*).

Rudimentárny plastid, tzv. apikoplast je nefotosyntetický plastid obalený štyrmi membránami pôvodom z červených rias, ktorý je prítomný u parazitov zo skupiny Apicomplexa ako napr. u pôvodcu toxoplazmózy *Toxoplasma gondii* a u pôvodcu malárie *Plasmodium falciparum*. Vzhľadom na to, že v apikoplaste týchto parazitov prebieha viacero esenciálnych biochemických procesov

ako syntéza hému, Fe-S klastrov, mastných kyselín a izoprenoidov, je prítomnosť apikoplastu a jeho plastidového genómu nevyhnutná pre prežitie väčšiny apikomplexných parazitov²³. V apikoplaste prebieha aj redukcia feredoxínu pomocou feredoxín-NADP⁺ reduktázy (feredoxínový redoxný systém) (tab. I). Redukovaný feredoxín slúži ako donor elektrónov vo viacerých biosyntetických dráhach prebiehajúcich v apikoplaste²⁴.

Vysoko redukovaný plastidový genóm *P. falciparum* (35 kb) kóduje 23 proteínov, 7 ORF (open reading frame – predikovaných proteínov s neznámou funkciou), plastidové rRNA a 25 tRNA (cit.⁵). U tohto parazita je možné vplyvom antibiotík experimentálne indukovať deštrukciu apikoplastu, ktorá vedie k smrti parazita. Ukázalo sa, že v štádiu životného cyklu, keď sa parazit nachádza v krvi človeka, je jedinou biochemickou dráhou prebiehajúcou v apikoplaste esenciálnou pre prežitie syntéza izoprenoidov. Preto ak krvnému štádiu *P. falciparum*, u ktorého bola indukovaná degradácia apikoplastu, externe dodáme prekursor izoprenoidov, parazit nezahynie, ale prežije a ďalej sa delí²⁵. Hoci je syntéza izoprenoidov v plastidoch esenciálna pre väčšinu apikomplexných parazitov, gregaríny *Lecudina tuzetae* a *Pterospira schizosoma* parazitujúce na morských bezstavovcoch pravdepodobne využívajú apikoplast výhradne k syntéze mastných kyselín²⁶ (tab. I).

K úplnej strate apikoplastu pravdepodobne došlo u zástupcov apikomplexných parazitov rodu *Cryptosporidium* a u gregarín parazitujúcich na suchozemských bezstavovcoch ako napr. *Gregarina niphandrodes*. K strate apikoplastu mohlo dôjsť jednak vďaka schopnosti syntetizovať mastné kyseliny pomocou cytosolickej dráhy nezávislej od plastidu⁵, ale aj vďaka schopnosti týchto extracelulárnych parazitov importovať esenciálne metabolity ako hém, izoprenoidy a mastné kyseliny z hostiteľa. Kryptosporídie majú značne zjednodušené monoxenické (jednohostiteľské) životné cykly, žijú neustále v prostredí bohatom na živiny a zároveň majú zníženú spotrebu hému. Kombinácia všetkých uvedených faktorov mohla do značnej miery uľahčiť stratu plastidu u týchto parazitov⁵.

Samostatnou líniou s nefotosyntetickými plastidmi s plastidovým genómom taxónu Alveolata je rod *Digyalum*. Metabolizmus plastidov tohto rodu je podobný typickým apikoplastom. Prebieha tu syntéza hému, Fe-S klastrov, mastných kyselín, izoprenoidov a je tu prítomný aj feredoxínový redoxný systém²⁷.

Colpodellida sú nefotosyntetickí predátori, príbuzní fotosyntetických Chromerida, spolu s ktorými sú radení do taxónu Chrompodellida^{27,28}. U zástupcov Colpodellida *Voromonas pontica*, *Alphamonas edax* a *Colpodella angusta* sa na základe analýz sekvencií transkriptov jadrových génov predpokladá, že viaceré proteíny sú importované do nefotosyntetických plastidov. V plastidoch *A. edax* pravdepodobne prebiehajú všetky biochemické dráhy spomínané u rodov *Plasmodium* a *Toxoplasma*, pričom u *V. pontica* a *C. angusta* z týchto dráh absentuje syntéza mastných kyselín^{27,28}. V súčasnosti nie sú k dispozícii dôkazy o prítomnosti plastidového genómu u týchto druhov (tab. I).

Predpokladá sa, že spoločný predok skupiny Dinoflagellata (panciernatky) disponoval komplexnými plastidmi s tromi membránami obsahujúcimi pigment peridínin, ktoré vznikli pohltitím červenej riasy. Približne polovica zástupcov dinoflagelát je však nefotosyntetických, čo v rámci tejto skupiny poukazuje na mnohonásobnú stratu schopnosti fotosyntetizovať. Aj u nefotosyntetických zástupcov sú však väčšinou prítomné nefotosyntetické plastidy. V rámci skupiny Dinoflagellata je často pozorovaným javom aj prítomnosť terciárnych kleptoplastidov (ukradnutých plastidov), prípadne terciárnych endosymbiontov, resp. plastidov, ktoré vznikajú endosymbiózou z rias už obsahujúcich sekundárne plastidy²⁹. Pôvodné sekundárne peridíninové plastidy sú v týchto prípadoch väčšinou zachované, no značne zredukované – neobsahujú genóm ani peridínin (tzv. kryptické peridíninové plastidy). Príkladom primárne heterotrofného zástupcu Dinoflagellata s kryptickými peridíninovými plastidmi, no často aj s kleptoplastidmi, je rod *Dinophysis*. Rod *Kryptoperidinium* obsahuje kryptický peridíninový plastid, ale aj terciárneho endosymbionta (rozsievku) a rod *Karenia* obsahuje pravdepodobne už len terciárny plastid derivovaný zo zástupcu skupiny Haptophyta, ktorý celkom nahradil funkciu pôvodného peridíninového plastidu³⁰.

V rámci skupiny Dinoflagellata majú popri voľne žijúcich rodoch *Dinophysis* a *Kryptoperidinium* zachované nefotosyntetické peridíninové plastidy bez genómu aj voľne žijúci morskí zástupcovia *Cryptocodinium cohnii*, *Noctiluca scintillans* a *Oxyrrhis marina* (bazálna, starobylá línia panciernatiek)³⁰. Nefotosyntetické plastidy bez genómu, obalené pravdepodobne štyrmi membránami nachádzame aj u parazita uštríc *Perkinsus marinus* zo sesterskej línie panciernatiek (Perkinsozoa)³¹. V plastidoch *P. marinus* prebieha syntéza Fe-S klastrov, redukcia feredoxínu a syntéza izoprenoidov, pričom v kryptických plastidoch *Dinophysis acuminatum*, *C. cohnii*, *N. scintillans* a *O. marina* prebieha okrem týchto troch biochemických dráh aj syntéza hému (tab. I). Predpokladá sa, že u voľne žijúcich panciernatiek sa pôvodný plastid nemôže ľahko stratiť, pretože nie je jednoduché nahradiť najmä plastidovú syntézu izoprenoidov a hému³⁰.

K úplnej strate plastidu došlo pravdepodobne u parazitických panciernatiek rodov *Hematodinium*³² a *Amoebophrya*³³. K úplnej strate plastidu mohlo u týchto parazitických zástupcov dôjsť vďaka zachovaniu viacerých starobylých cytosolických anabolických biochemických dráh, presunu niektorých biochemických dráh z plastidov do cytosolu a vďaka čerpaniu viacerých metabolitov z hostiteľov^{32,33}.

3.2. Stramenopiles

Väčšina zástupcov skupiny Stramenopiles má komplexné fotosyntetické plastidy obalené štyrmi membránami. Strata schopnosti fotosyntetizovať nie je v rámci tejto skupiny neobvyklým javom. Štruktúry podobné plastidom boli pozorované u niektorých izolátov rozsievok (Bacillariophyceae) rodu *Nitzschia*, v rámci ktorého došlo niekoľkokrát k nezávislej strate fotosyntézy. V plastido-

vom genóme rozsievky *Nitzschia* sp. NIES-3851 (cca 68 kb) nie sú zachované fotosyntetické gény s výnimkou génov kódujúcich podjednotky ATP-ázy. Zachovanie génov kódujúcich podjednotky ATP-ázy môže súvisieť so zachovaním Tat translokónu pre import proteínov do tylakoidov, ktorý vyžaduje hydrolyzu ATP (cit.³⁴). Nefotosyntetické plastidy tejto rozsievky stratili schopnosť syntézy izopentenyl pyrofosfátu (IPP) a fixácie CO₂ závislej na enzýme Rubisco⁵. V plastidoch sa však zachovali iné dráhy, napr. pre syntézu aminokyselín alebo glukoneogenéza, ale aj syntéza mastných kyselín, Fe-S klastrov a hému³⁵ (tab. I). Namiesto feredoxínu využíva tento zástupca v redoxných procesoch flavodoxín¹⁵.

Nefotosyntetické plastidy sú prítomné aj u rodov *Spumella* sp. NIES-1846 a *Paraphysomonas* (Chrysophyceae) alebo u *Pteridomonas danica* a *Ciliophrys infusionum* (Dictyochophyceae)⁵. *P. danica* a *C. infusionum* disponujú plastidovými genómami, u ktorých nebola doposiaľ stanovená kompletná nukleotidová sekvencia. Napriek tomu je dokázané, že obsahujú minimálne gény *rbcL* a *rbcS* kódujúce veľkú a malú podjednotku enzýmu Rubisco³⁶.

Plastidový genóm *Spumella* sp. NIES-1846 kóduje 45 proteínov, pričom väčšina z nich má úlohu v plastidovej translácii a transkripcii, dva *suf* gény v syntéze Fe-S klastrov a len jeden gén kóduje podjednotku fotosystému (feredoxín, *petF*) s pravdepodobnou úlohou v iných oxidačno-redukčných dráhach⁸. V plastidoch *Spumella* sp. NIES-1846 bola potvrdená syntéza hému, no neprebíha tu syntéza mastných kyselín ani izoprenoidov (tab. I). Rod *Paraphysomonas* má zachované nefotosyntetické plastidy bez plastidového genómu. Tieto plastidy sa zúčastňujú napr. syntézy hému, lipidov a steroidov⁸.

3.3. Cryptophyta

K nezávislej strate fotosyntézy došlo v rámci rodu *Cryptomonas* minimálne trikrát, pričom u všetkých troch fotosynteticky neaktívnych druhov boli zachované komplexné plastidy ohraničené štyrmi membránami a medzi druhou a treťou membránou plastidu zostal zachovaný aj zvyšok jadra endosymbiotickej riasy, tzv. nukleomorfu. Genóm nukleomorfu *Cryptomonas paramecium* (486 kb) kóduje 466 proteínov³⁸. Pre porovnanie plastidový (pôvodom sínicový) genóm *C. paramecium* (78 kb) kóduje 82 proteínov, 27 tRNA a 3 rRNA, pričom chýba väčšina fotosyntetických génov s výnimkou génov *rbcL* a *rbcS* (veľká a malá podjednotka enzýmu Rubisco), *cbxX* (Rubisco aktiváza) a *atp* génov (podjednotky ATP-syntázy). V plastidovom genóme sú zachované aj gény kódujúce proteíny zodpovedné za import proteínov do tylakoidov (*secA*, *secY* a *tatC*), ktoré sa zachovali aj v plastidovom genóme *Nitzschia* sp. NIES-3581. V plastidovom genóme *C. paramecium* je zachovaný aj *chlI*, teda gén kódujúci magnézium chelatázu, ktorá sa zvyčajne zúčastňuje syntézy chlorofylu, no môže hrať úlohu aj v signalizácii medzi plastidom a jadrom. Zachoval sa aj plastidový gén *petF* kódujúci feredoxín, ktorý pravdepodobne slúži ako donor elektrónov pre niektoré bioche-

Tabuľka I
 Výbrani zástupcovia s nefotosyntetickými plastidmi, základné charakteristiky a metabolizmus ich plastidov

Zástupcovia (taxonomické zaradenie)	Pôvod plastidu	Počet membrán plastidu	Veľkosť plastidového genómu (kb)	Počet génov kódujúcich proteíny	FAS	Fe-S	HEME	IPP	FDX	RBC
<i>Rhodospirillum rubrum</i> (Archaeplastida, Rhodophyta)	sinica	2	0	0	–	+	+	–	+	–
<i>Helicospirillum rubrum</i> sp. (Archaeplastida, Chlorophyta)	sinica	2	37,5	26	+	+	+	+	+	–
<i>Polytomella</i> spp. (Archaeplastida, Chlorophyta)	sinica	2	0	0	+	+	+	+	+	–
<i>Monotropa hypopitys</i> (Archaeplastida, Streptophyta)	sinica	2	35	19	+	+	+	+	+	–
<i>Toxoplasma gondii</i> (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	35	21	+	+	+	+	+	–
<i>Plasmodium falciparum</i> (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	35	23	+	+	+	+	+	–
Morské gregaríny (Alveolata, Apicomplexa)	červená riasa	4	0	0	+	–	–	–	–	–
<i>Alphamonas edax</i> (Alveolata, Chromodellida)	červená riasa	4	0	0	+	+	+	+	+	–
<i>Voromonas pontica</i> <i>Colpodella angusta</i> (Alveolata, Chromodellida)	červená riasa	4	0	0	–	+	+	+	+	–
<i>Perkinsus marinus</i> (Alveolata, Perkinsozoa)	červená riasa	4	0	0	–	+	–	+	+	–
<i>Noctiluca scintillans</i> <i>Dinophysis acuminatum</i> <i>Oxyrrhis marina</i> (Alveolata, Dinoflagellata)	červená riasa	3	0	0	–	+	+	+	+	–
<i>Nitzschia</i> sp. NIES-3581 (Stramenopiles, Bacillariophyceae)	červená riasa	4	68	62	+	+	+	–	*	–
<i>Spumella</i> sp. NIES-1846 (Stramenopiles, Chrysophyceae)	červená riasa	4	53	45	–	+	+	–	+	–
<i>Euglena longa</i> (Discoba, Euglenozoa)	zelená riasa	3	73	27	–	+	–	–	+	+

FAS (angl. fatty acid synthesis) – syntéza mastných kyselín; Fe-S (angl. iron-sulfur cluster synthesis) – syntéza Fe-S klastrov; HEME (angl. heme synthesis) – syntéza hému; IPP (angl. isopentenyl pyrophosphate synthesis) – syntéza izopentenyl pyrofosfátu, prekursoru izoprenooidov; FDX – feredoxín, RBC – Rubisco; + metabolická dráha prítomná; – metabolická dráha neprítomná; * flavodoxín nahrádza funkciu feredoxínu.

mické dráhy podobne ako u iných organizmov s nefotosyntetickými plastidmi. Prítomnosť génov *sufB* a *sufC* naznačuje, že v plastide *C. paramecium* prebieha aj syntéza Fe-S klastrov^{37,38}. Ďalšími biochemickými dráhami prebiehajúcimi v tomto nefotosyntetickom plastide je pravdepodobne syntéza aminokyselín a mastných kyselín⁸. Zaujímavosťou je, že ďalšie tri iné nefotosyntetické izoláty rodu *Cryptomonas* majú plastidy s podobnými funkciami, no z plastidového genómu sa stratili gény kódujúce Rubisco³⁹.

3.4. Euglenophyta

Sekundárna strata fotosyntézy nastala viackrát aj v rámci skupiny Euglenophyta, a to napr. u nefotosyntetických druhov *Euglena quartana* alebo *Phacus*³. V súčasnosti nie je známe, či sa u týchto prvokov zachovali plastidy. Najlepšie preštudovaný sekundárny heterotrof spomedzi Euglenophyta je voľne žijúci bezfarebný osmotrofný bičíkovec *Euglena longa*, ktorý je blízko príbuzný fotosyntetizujúcemu druhu *Euglena gracilis*. Komplexné plastidy oboch bičíkovecov sú obalené tromi membránami. Plastidový genóm *E. longa* (73 kb) je v porovnaní s plastidovým genómom *E. gracilis* (143 kb) približne o polovicu menší. V plastidovom genóme *E. longa* chýbajú gény kódujúce proteíny nevyhnutné pre proces fotosyntézy. Výnimkou je len gén *rbcL* kódujúci veľkú podjednotku Rubisco. Väčšina plastidových génov má funkciu v procesoch plastidovej transkripcie a translácie. Predpokladá sa, že plastidový genóm *E. longa* zostal zachovaný za účelom expície génu pre veľkú podjednotku Rubisco, prípadne génov s neznámou funkciou (*orf*)⁴⁰. U *E. longa* dochádza k translácii plastidového *rbcL* génu a aj jadrom kódovaného *RbcS* génu, avšak hladiny týchto proteínov sú významne nižšie ako u *E. gracilis*⁴¹. Podľa najnovšej štúdie prebieha v plastidoch *E. longa* linearizovaná Calvin-Bensonova dráha bez glukoneogenetickej časti, ktorá je súčasťou štandardnej Calvin-Bensonovej dráhy. Táto linearizovaná dráha by mohla byť aktivovaná feredoxín/tioredoxínovým redoxným systémom prítomným v týchto plastidoch. Okrem toho prebieha v plastidoch *E. longa* syntéza fosfolipidov, glykolipidov, Fe-S klastrov a syntéza vitamínov E a K. V týchto plastidoch naopak neprebieha syntéza mastných kyselín, izoprenoidov ani hému⁴² (tab. I).

Stratu fotosyntézy je u *E. gracilis* možné indukovať experimentálne vplyvom rôznych fyzikálnych (napr. UV žiarením) a chemických (napr. antibiotikami) faktorov. Ich účinkom dochádza u *E. gracilis* k inhibícii replikácie alebo expície chloroplastového genómu a k nenávratnej strate chloroplastových génov. Tento proces je označovaný termínom „vybielovanie“ (angl. bleaching). Plastidový genóm stabilných bielych mutantov tohto bičíkovca je značne redukovaný, pričom u niektorých pravdepodobne úplne chýba. Pokiaľ majú biele mutanty *E. gracilis* dostatok externých organických zdrojov uhlíka, strata fotosyntézy nemá vplyv na ich životaschopnosť. Paradoxom je, že nefotosyntetický bičíkovec *E. longa* degradáciu plastidového genómu neprežíva⁴⁰.

4. Záver

Výsledkom straty jediného plastidového génu s kritickou funkciou vo fotosyntéze je strata schopnosti fotosyntetizovať. Pre primárne fotosyntetické organizmy je takáto strata väčšinou letálna. V prípade mixotrofov predadaptovaných na heterotrofný životný štýl, žijúcich v prostredí bohatom na živiny (organické zdroje uhlíka pre osmotrofov alebo mikróby pre fagotrofov), po strate jediného fotosyntetického plastidového génu už neexistuje selekčný tlak na zachovanie ostatných fotosyntetických génov a ľahko môže dôjsť k ich postupnej strate. U väčšiny eukaryotických organizmov, ktoré sekundárne stratili fotosyntézu, zostávajú aj napriek tomu spravidla zachované nefotosyntetické plastidy a ich genómy. Dôvodom zachovania nefotosyntetického plastidu s genómom je vo väčšine prípadov zrejme to, že plastidový genóm kóduje minimálne jeden gén, ktorý je esenciálny pre prežitie. Na to, aby sa takýto gén mohol exprimovať, musia zostať zachované aj ďalšie plastidové gény s funkciou v procesoch plastidovej transkripcie a translácie alebo replikácie plastidového genómu.

Dôvodom retencie fotosynteticky neaktívnych plastidov s genómom či bez neho je zvyčajne ich úloha pri zabezpečení esenciálnych metabolických dráh, akými sú najmä syntéza aminokyselín, mastných kyselín, Fe-S klastrov, tetrapyrolu (hému) a nemevalonátová (tzv. DOXP) dráha pre syntézu izopentenyl pyrofosfátu (IPP), prekursoru pre syntézu izoprenoidov⁵. Pomerne často býva zachovaný aj feredoxínový redoxný systém, ktorý slúži ako donor elektrónov pre viaceré redoxné biochemické reakcie prebiehajúce v nefotosyntetických plastidoch.

Medzi esenciálne plastidové tRNA gény, ktoré môžu byť zachované nielen z dôvodu účasti na plastidovej translácii, patrí napr. *trnE* kódujúci Glu-tRNA. U viacerých organizmov je Glu-tRNA kľúčovým prekursorom pre biosyntézu tetrapyrolu (hému a chlorofylu). Pokiaľ nefotosyntetický organizmus nedisponuje inou dráhou pre syntézu hému, plastidový genóm kódujúci Glu-tRNA musí zostať zachovaný⁵.

V plastidovom genóme mnohých nepríbuzných organizmov ako *C. infusionum*, *E. longa*, *P. danica*, *A. mirabilis*, *C. gronovii*, *C. paramecium* a *P. stellaris* je zachovaný *rbcL* gén kódujúci veľkú podjednotku Rubisco. Jej funkcia nie je u väčšiny z nich doposiaľ celkom známa, no predpokladá sa, že môže zohrávať úlohu pri fixácii uhlíka (resp. CO₂), v biosyntéze glycinu a serínu, v alternatívnej dráhe biosyntézy lipidov, prípadne môže fungovať ako oxygenáza. Pokiaľ je plastidový *rbcL* gén esenciálny, tak je aj dôvodom pre zachovanie funkčného plastidového genómu a plastidových ribozómov, vďaka ktorým dochádza k jeho expresii⁵.

K zriedkavej úplnej strate plastidového genómu, no nie samotného plastidu došlo u rodov *Polytomella* a *Rafflesia*^{7,20} a pravdepodobne aj u *Perkinsus*, u viacerých zástupcov z taxónov Colpodellida a Dinoflagellata a u rodu *Paraphysomonas* (Chrysophyceae)^{8,27,28,30}. Vzhľadom na existenciu esenciálnych biosyntetických dráh prebiehajúcich v plastidoch je ich úplná strata ojedinelá²⁸.

K tejto zriedkavej udalosti došlo napr. u panciernatky rodu *Hematodinium*. Táto parazitická panciernatka má dráhy pre syntézu hému a mastných kyselín lokalizované v cytosole a prekursor pre syntézu izoprenoidov (IPP) prijíma z hostiteľa³². Kompletnú stratu plastidu je možné za špecifických podmienok experimentálne indukovať v krvnom štádiu pôvodcu malárie *P. falciparum*. K strate plastidov počas evolúcie došlo aj u ďalších zástupcov skupiny Apicomplexa, ako sú napr. rod *Cryptosporidium* a *G. niphandrodes*⁵.

Strácanie fotosyntézy, plastidových genómov a plastidov nie sú ojedinelé príklady reduktívnej evolúcie. Redukovať, prípadne úplne strácať sa môžu gény, veľké časti genómov, bunkové organely, ale aj makroskopické štruktúry. Reduktívna evolúcia mohla dokonca zohrať významnú úlohu už v najranejších štádiách diverzifikácie života^{43–45} a jej význam môže byť porovnateľný s evolúciou spojenou so zvyšovaním komplexnosti.

Zoznam skratiek

acetyl-CoA	acetylkoenzým A
ATP	adenozíntrifosfát
DOXP	nemevalonátová dráha (1-deoxy-D-xylulóza-5-fosfát dráha)
EGT	endosymbiotický génový transfer
Glu-tRNA	glutamyl-tRNA
IPP	izopentenyl pyrofosfát
NADP ⁺	nikotínamidadenínukleotidfosfát
ORF	otvorený čítací rámec
rRNA	ribozómová ribonukleotidová kyselina
Rubisco	ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza
tRNA	transferová ribonukleotidová kyselina

LITERATÚRA

- Adl S. M. a 46 spoluautorov: *J. Eukaryot. Microbiol.* 66, 4 (2019).
- Parfrey L. W., Lahr D. J. G., Knoll A. H., Katz L. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 13624 (2011).
- Vesteg M., Vacula R., Krajčovič K.: *Folia Microbiol.* 54, 303 (2009).
- Raven J. A., Allen J. F.: *Genome Biol.* 4, 209 (2003).
- Hadariová L., Vesteg M., Hampl V., Krajčovič J.: *Curr. Genet.* 64, 365 (2018).
- Keeling P. J.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 583 (2013).
- Smith D. R., Lee R. W.: *Plant Physiol.* 164, 1812 (2014).
- Dorrell R. G. a 10 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 6914 (2019).
- Gawryluk R. M. R., Tikhonenkov D. V., Hehenberger E., Husník F., Mylnikov A. P., Keeling P. J.: *Nature* 572, 240 (2019).
- Salomaki E. D., Lane C. E.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 83, 369 (2014).
- Blouin N. A., Lane C. E.: *BioEssays* 34, 226 (2012).
- Salomaki E. D., Nickles K. R., Lane C. E.: *J. Phycol.* 51, 217 (2015).
- Yan D., Wang Y., Murakami T., Shen Y., Gong J., Jiang H., Smith D. R., Pombert J. F., Dai J., Wu Q.: *Sci. Rep.* 5, 14465 (2015).
- Pombert J. F., Blouin N. A., Lane C., Boucias D., Keeling P. J.: *PLoS Genet.* 10, e1004355 (2014).
- Kayama M., Chen J.-F., Nakada T., Nishimura Y., Shikanai T., Azuma T., Miyashita H., Takaichi S., Kashiya Y., Kamikawa R.: *BMC Biol.* 18, 126 (2020).
- Borza T., Popescu C. E., Lee R. W.: *Eukaryot. Cell* 4, 253 (2005).
- Figuroa-Martinez F., Nedelcu A. M., Smith D. R., Reyes-Prieto A.: *Plant Physiol.* 173, 932 (2017).
- Fuentes-Ramírez E. O., Vázquez-Acevedo M., Cabrera-Orefice A., Guerrero-Castillo S., Gonzalez-Halphen D.: *Microbiol. Res.* 243, 126649 (2021).
- Wickett N., Zhang Y., Hansen S. K., Roper J. M.: *Mol. Biol. Evol.* 25, 393 (2008).
- Molina J. a 16 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 31, 793 (2014).
- Ng S. M., Lee X. W., Mat-Isa M. N., Aizat-Juhari M. A., Adam J. H., Mohamed R., Wan K. L., Firdaus-Raih M.: *Sci. Rep.* 8, 17258 (2018).
- Thomsen H. A., Østergaard J. B.: *Acta Protozool.* 53, 235 (2014).
- Salomaki E. D., Kolisko M.: *Biomolecules* 9, 378 (2019).
- Pandini V., Caprini G., Thomsen N., Aliverti A., Seeber F., Zanetti G.: *J. Biol. Chem.* 277, 48463 (2002).
- Yeh E., DeRisi J. L.: *PLoS Biol.* 9, e1001138 (2011).
- Mathur V., Kolisko M., Hehenberger E., Irwin N. A. T., Leander B. S., Kristmundsson A., Freeman M. A., Keeling P. J.: *Curr. Biol.* 29, 2936 (2019).
- Janouškovec J., Paskerova G. G., Miroliubova T. S., Mikhailov K. V., Birley T., Aleoshin V. V., Simdyanov T. G.: *eLife* 8, e49662 (2019).
- Janouškovec J., Tikhonenkov D. V., Burki F., Howe A. T., Kolisko M., Mylnikov A. P., Keeling P. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 10200 (2015).
- Hehenberger E., Imanian B., Burki F., Keeling P. J.: *Genome Biol. Evol.* 6, 2321 (2014).
- Janouškovec J. a 14 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, E171 (2017).
- Robledo J. A. F., Caler E., Matsuzaki M., Keeling P. J., Shanmugam D., Roos D. S., Vasta G. R.: *Int. J. Parasitol.* 41, 1217 (2011).
- Gornik S. G. a 10 spoluautorov: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 5767 (2015).
- Farhat S. a 26 spoluautorov: *BMC Biol.* 19, 209 (2021).
- Kamikawa R. a 10 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 32, 2598 (2015).
- Kamikawa R. a 10 spoluautorov: *Mol. Biol. Evol.* 34, 2355 (2017).
- Sekiguchi H., Moriya M., Nakayama T., Inouye I.: *Protist* 153, 157 (2002).
- Donaher N., Tanifuji G., Onodera N. T., Malfatti S. A., Chain P. S. G., Hara Y., Archibald J. M.: *Genome*

- Biol. Evol. 1, 439 (2009).
38. Tanifuji G., Onodera N. T., Wheeler T. J., Dlutek M., Donaher N., Archibald J. M.: *Genome Biol. Evol.* 3, 44 (2011).
 39. Tanifuji G., Kamikawa R., Moore C. E., Mills T.: *Genome Biol. Evol.* 12, 3926 (2020).
 40. Hadariová L., Vesteg M., Birčák E., Schwartzbach S. D., Krajčovič J.: *Curr. Genet.* 63, 331 (2017).
 41. Záhonová K., Füssy Z., Oborník M., Eliáš M., Yurchenko V.: *PLoS One* 11, e0158790 (2016).
 42. Füssy Z., Záhonová K., Tomčala A., Krajčovič J., Yurchenko V., Oborník M., Eliáš M.: *mSphere* 5, e00675-20 (2020).
 43. Vesteg M., Krajčovič K.: *Curr. Genet.* 57, 367 (2011).
 44. Vesteg M., Šándorová Z., Krajčovič K.: *J. Mol. Evol.* 74, 226 (2012).
 45. Krchňáková Z., Krajčovič K., Vesteg, M.: *J. Mol. Evol.* 85, 37 (2017).

A. Lukáčová and M. Vesteg (*Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University, Banská Bystrica, Slovakia*): **Multiple Independent Losses of Photosynthetic Ability in Eukaryotic Evolution and the Metabolism of Non-Photosynthetic Plastids**

Multiple independent losses of photosynthesis have occurred among several unrelated eukaryotic lineages including red and green algae, land plants, alveolates, stramenopiles, cryptophytes and euglenophytes. Most plastid genomes of non-photosynthetic eukaryotes do not contain genes associated with photosynthesis, but they usually encode at least one gene product involved in an essential non-photosynthetic metabolic pathway. Complete loss of plastid genome and simultaneous retention of plastid compartment is rare, and complete plastid loss is documented only for few alveolate species. Non-photosynthetic plastids are often involved in essential fatty acid, isoprenoid, Fe-S cluster, and heme synthesis.

Keywords: plastid genome, cryptic organelles, non-photosynthetic plastids, essential metabolic pathways

● Lukáčová A., Vesteg M.: *Chem. Listy* 116, 316–323 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220316>