WIADOMOŚCI PARAZYTOLOGICZNE
T. 48 (4) 2002: 319–331

ARTYKUŁY PRZEGLĄDOWE

MEANDRY SYSTEMATYKI MIKROSPORYDIÓW

MYKOLA OVCHARENKO [1] I IRENA WITA [2]

[1] Instytut Hydrobiologii Narodowej Akademii Nauk Ukrainy, pr. Geroiv Stalingradu 12, 04-222 Kijów, Ukraina, E-mail: mykolaov@i.com.ua; [2] Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa; E-mail: wita@twarda.pan.pl

ABSTRACT. Meanders of systematics of Microsporidia. Taxonomical questions of Microsporidia, its systematic position and evolutionary relationship with other Eukaryota are discussed. Utilizations of modern methods of investigations of microsporidians cause new taxonomical troubles. At the present time it is difficult to create a clear hypothesis concerning the phylogeny and evolution of Microsporidia. Most likely they are representatives of a new kingdom of Eukaryota. Existing problems will not be dissolved until new detailed data concerning the new and common species are obtained.

Key words: microsporidia, systematical questions.

WSTĘP

Mikrosporydia, jako wysoce patogeniczne pasożyty stanowiące też poważny problem w terapii chorób związanych z objawami immunosupresji, wywołują w ostatnich latach duże zainteresowanie w weterynarii i medycynie. Mikrosporydioza człowieka jest jedną z głównych chorób towarzyszących AIDS (Canning i Hollister 1991). Pasożyty te reprezentują jedną z najstarszych gałęzi drzewa filogenetycznego Eukaryota. Brak mitochondriów, prokariotyczny typ rybosomalnego RNA, unikalny sposób zarażania komórki żywicielskiej, to główne cechy, które wyodrębniają mikrosporydia spośród innych pierwotniaków. Biorąc pod uwagę wielożywicielski cykl rozwojowy niektórych mikrosporydiów (Becnel 1992, 1994) i ich zdolność do rozwoju w komórkach ssaków, w tym i człowieka (Moura i wsp. 1999, Trammer i wsp. 1999), oczywistą staje się potrzeba szczegółowych badań tej grupy pasożytniczych Eukaryota, zwłaszcza w strefach działalności gospodarczej czy rekreacyjnej człowieka.

Obecnie znanych jest ponad 1200 gatunków mikrosporydiów, należących do ponad 140 rodzajów, z których około połowa, to pasożyty wodnych

bezkręgowców. Ponieważ mikrosporydia są wewnątrzkomórkowymi pasożytami, wytwarzającymi jednokomórkowe spory – tradycyjnie traktowano je jako pierwotniaki spokrewnione ze sporowcami. Badania ultrastrukturalne wykazały odrębność mikrosporydiów i sporowców. Użycie metod cytochemii i biologii molekularnej do celów systematyki i filogenezy mikrosporydiów spowodowało wyłonienie się nowych taksonomicznych zagadnień. Jednakże, w nowych klasyfikacjach taksonomicznych Eukaryota dla mikrosporydiów nie przewidziano miejsca w żadnym z królestw (Animalia, Plantae, Fungi, Protista).

PRADAWNE PIERWOTNIAKI, GRZYBY CZY PRZEDSTAWICIELE ODRĘBNEGO KRÓLESTWA?

W roku 1969 Whittaker zaproponował zastąpienie dotychczasowego podziału Eukaryota na królestwa roślin i zwierząt (Animalia, Plantae) podziałem na 4 królestwa – Grzyby (Fungi), Zwierzęta (Animalia), Rośliny (Plantae), Pierwotniaki (Protista). O ile trzy pierwsze królestwa są jasno określonymi monofiletycznymi grupami, to królestwo Protista jest grupą polifiletyczną i obejmuje organizmy, należące, być może, do innych królestw. Według klasyfikacji Whittakera królestwo Protista jest buforem pomiędzy Prokaryota i Eukaryota; z Protista w procesie ewolucji powstały królestwa Plantae, Fungi i Animalia. Brak jasno określonej granicy pomiędzy Protista i pozostałymi Eukaryota stał się z jednej strony przyczyną podniesienia rangi pierwotniaków, a z drugiej wzrostu liczby wyróżnionych królestw eukariontów. I tak, Leedale (1974) wyróżnił 18 królestw Eukaryota, Cavalier-Smith, (1998) zaproponował podział Eukaryota na 5 królestw (Plantae, Metazoa, Fungi, Chromista, Protozoa), Philippe i Adoutte (1998) wyrazili opinię, że każda z licznych monofiletycznych grup, powstałych w wyniku „wielkiej eksplozji", spowodowanej pojawieniem się mitochondrialnych symbiontów mogłaby zapoczątkować samodzielne królestwo. Na początku lat 90 wyróżniono około 80 typów Eukaryota (Patterson 1994), a obecnie w jednym tylko królestwie Protista wyróżnia się nawet ponad 30 typów (Karpow 2000).

Główną podstawą zaliczania mikrosporydiów do królestwa Protista jest jednokomórkowa budowa spor i stadiów rozwojowych oraz nietkankowy poziom organizacji, w którym wszystkie komórki wielojądrowego plazmodium są jednakowo zbudowane.

Pierwszy gatunek mikrosporydium, *Nosema bombycis*, został opisany z jedwabnika *Bombyx mori* przez Naegeliego w roku 1857 (Naegeli 1857). W roku 1909 Stempell wyodrębnił mikrosporydia w oddzielny rząd – Microsporidia, który razem z rzędami Myxosporidia i Actinomixidia został połączony w gromadę Cnidosporidia. Podstawą dla zaliczenia mikrosporydiów do Cnidosporidia była obecność w ich sporach nici biegunowej. Niektórzy autorzy (np. Stempell 1904) uważali, że spory mikrosporydiów, podobnie jak spory myksosporydiów, są wielojądrowe. Hipoteza o wielojądrowości spor mikro-

sporydiów została odrzucona jeszcze w oparciu o dane uzyskane w mikroskopie świetlnym przy zastosowaniu reakcji Feulgena (Jírovec 1932), a szczegóły budowy nici biegunowej zostały poznane nieco później przy użyciu metod mikroskopii elektronowej.

Już pierwsze wyniki badań ultrastruktury spor mikrosporydiów wykazały, że różnią się one od spor innych Cnidosporidia. Zaobserwowano, iż w przeciwieństwie do myksosporidiów i aktinomiksydiów, wszystkie jądra mikrosporydiów są jednakowe, a ich spory posiadają co najmniej trójwarstwową otoczkę oraz również wielowarstwową, drożną nić biegunową, przez którą zarodek, zwany amebulą lub sporoplazmą opuszcza sporę po wystrzeleniu nici biegunowej w organizmie żywiciela (Lom i Vávra 1963, Ishihara 1968, Lom 1972). Biorąc pod uwagę cechy charakterystyczne budowy spor mikrosporydiów Tuzet i wsp. zaproponowali w roku 1971 wydzielenie ich w oddzielną gromadę (Microsporidia) w ramach typu Sporozoa, a w roku 1977 Sprague uznał mikrosporydia za odrębny typ.

Dalsze badania wykazały, że mikrosporydia istotnie różnią się nie tylko od pierwotniaków, lecz także od pozostałych Eukaryota. Ich cytoplazma zawiera typowo prokariotyczne rybosomy (Ishihara i Hayashi 1968) z prokariotycznym typem rybosomalnego RNA (Curgy i wsp.1980), a jądro posiada najmniejszy wśród eukariontów rozmiar genomu: 19.5 Mb – 2.9 Mb (Biderre i wsp. 1995). Genomy niektórych mikrosporydiów są nawet o wiele mniejsze od genomów Prokaryota. I tak, genom bakterii *Escherichia coli* ma wielkość 4.6 Mb (Blattner i wsp. 1997), a rozmiar genomu mikrosporydium *Encephalitozoon cuniculi* wynosi 2.9 Mb (Biderre i wsp. 1995, Katinka i wsp. 2001). Cechy te, oraz brak mitochondriów, klasycznego aparatu Golgiego, peroksysomów, mikrotubularnych struktur typu 9+2, brak eukariotycznego 5.8S rRNA (Curgy i wsp. 1980, Vossbrinck i wsp. 1987) świadczą o niezwykłej dawności pochodzenia mikrosporydiów, które mogły powstać jeszcze przed pojawieniem się mitochondrialnych symbiontów i eukariotycznych molekuł 5.8S rRNA. Dane te stały się podstawą do wyodrębnienia królestwa Archezoa, czyli starych Eukaryota (Cavalier-Smith 1989, Rodger 1999), do których razem z mikrosporydiami zaliczono niektóre inne amitochondrialne jednokomórkowce (Diplomonadida, Parabasalia). Hipotezę o pradawności pochodzenia mikrosporydiów podtrzymywały już pierwsze wyniki badań sekwencji genów kodujących RNA małej podjednostki rybosomu (Vossbrinck i wsp. 1987). Późniejsze wyniki badań genów rybosomalnego RNA przy zastosowaniu różnych metod ustalania pokrewieństwa molekuł również przemawiały za tym, że mikrosporydia są najstarszymi organizmami wśród dotychczas poznanych pasożytniczych Eukaryota (Cavalier-Smith 1993, Sogin i Silberman 1998). Ponadto za hipotezą „microsporidia-early" (Hirt i wsp. 1999), przemawiała analiza filogenetyczna niektórych czynników, inicjujących biosyntezę białka (Ef-1α, Ef-2) (Kamaishi i wsp. 1996a, b).

Pierwsze wątpliwości co do słuszności hipotezy „microsporidia-early" pojawiły się po odkryciu w genomie mikrosporydiów genu kodującego białko HSP-70, właściwego dla organizmów posiadających mitochondria (Germot i wsp. 1997, Hirt i wsp. 1997, Peyretaillade i wsp. 1998). Obecność tego odcinka może wskazywać, że dawne mikrosporydia mogły utracić mitochondria podczas długotrwałego przystosowywania się do wewnątrzkomórkowego pasożytnictwa.

Filogenetyczna analiza wyników badań molekularnych α- i β-tubulin wykazała wysoki stopień ich podobieństwa u mikrosporydiów i grzybów (Edlind i wsp. 1996, Keeling i Doolittle 1996, Hirt i wsp. 1997, Fast i wsp. 1999, Weiss i wsp. 1999). Ponowna analiza danych dotyczących sekwencji genów kodujących RNA dużej podjednostki rybosomu mikrosporydiów za pomocą nowego programu komputerowego do ustalania pokrewieństwa filogenetycznego na podstawie wyników analizy sekwencji DNA dała podstawę do wnioskowania, że mikrosporydia, dotychczas traktowane jako dawne, prymitywne eukarionty, mogą okazać się w rzeczywistości „kuriozalnymi" grzybami (Van de Peer i wsp. 2000). Zdaniem niektórych badaczy (Edlind 1998, Fast i wsp. 1999, Hirt i wsp. 1999, Keeling i wsp. 2000) historia ewolucyjna mikrosporydiów może okazać się o wiele krótsza, niż dotychczas sądzono, a prosta budowa mogłaby być wynikiem regresji, związanych z pasożytniczym trybem życia. Za „grzybną" hipotezą natury mikrosporydiów przemawia pewne podobieństwo w budowie aparatu jądrowego (diplokariony), obecność chityny w otoczce spor mikrosporydiów oraz podobieństwo sposobu podziału jądra. Nowa hipoteza nie może jednak pretendować do wersji ostatecznej, ponieważ nie określa jasno miejsca mikrosporydiów w taksonomicznej hierarchii Eukaryota. Nie można również pominąć danych molekularnych i biochemicznych, przemawiających za hipotezą „microsporidia-early".

Jeszcze przed powstaniem „grzybnej" hipotezy, opartej o dane molekularne, Starobogatow (1986) umieścił typ Microspora w królestwie Fungi, na równi z typem Mycota. Popierając „grzybną" hipotezę, ale także uważając mikrosporydia za dawne i prymitywne Eukaryota, Karpow (2000) wyłączył mikrosporydia z królestwa Protista, i wypowiedział się za umiejscowieniem ich w królestwie grzybów, które jego zdaniem powinno obejmować dwa nadtypy: Microsporidia i Mycota. Według Karpowa obydwie grupy są prymitywnymi eukariontami, posiadającymi niektóre cechy prokariontów, co może świadczyć o ich wczesnym oddzieleniu się od pozostałych eukariontów. Obie grupy posiadają wspólne cechy, takie jak: brak wici, rzęsek i centrioli, niezdolność do poruszania się, jądra w postaci diplokarionów, podobny sposób podziału jądra i podobny układ aparatu Golgiego (Karpow 2000).

W Tabeli 1 zestawiono, dla porównania, charakterystyczne cechy mikrosporydiów i grzybów. Główna różnica między nimi polega na tym, że mikrosporydia są organizmami jednokomórkowymi, których cykl rozwojowy rozpoczyna się od jednokomórkowego zarodka (sporoplazmy) i kończy się wytworzeniem jednokomórkowych spor.

Tabela 1. Charakterystyka porównawcza mikrosporydiów i grzybów

Cechy	Grzyby	Mikrosporydia
Obecność chityny	Kształtuje ścianę komórki	Obecna tylko w egzosporze
Mitochondria	Zawsze obecne	Brak
Sposób odżywiania	Osmotroficzny, heterotroficzny	Heterotroficzny kosztem żywych komórek żywicielskich
Mejoza	Zawsze zygotyczna	Zygotyczna, udokumentowana tylko dla przedstawicieli jednego rzędu (Meiodiplophazida)
Mitoza	Zamknięta wewnątrzjądrowa pleuromitoza (u większości taksonomicznych grup)	Zamknięta wewnątrzjądrowa pleuromitoza (u wszystkich zbadanych gatunków)
Diplokariony	Obecne	Obecne wyłącznie u przedstawicieli jednej gromady (Dihaplophasea)
Retikulum endoplazmatyczne	Słabo rozwinięte	Słabo rozwinięte w najwcześniejszych stadiach rozwojowych, dobrze rozwinięte u spor.
Aparat Golgiego	Nie ma diktiosomów	Nie ma diktiosomów, odgrywa ważną rolę w formowaniu aparatu ekstruzji
Struktury micelialne	Dobrze rozwinięte, u wielu grup wytwarzają organy rozmnażania o złożonej budowie	Brak
Aparat ekstruzji	Brak	Dobrze rozwinięty, o rozmaitej budowie u przedstawicieli różnych rodzajów
Układ	Wielokomórkowy, wytwarza jeden typ tkanki	Jednokomórkowy, wytwarza wielojądrowe plazmodium, które rozdziela się na jednokomórkowe sporoblasty, przekształcające się w spory

Mikrosporydia są niewątpliwie organizmami o długiej historii ewolucyjnej i, być może, najstarszymi spośród pasożytniczych Eukaryota. Brak mitochondriów, pierwotny czy też spowodowany pasożytniczym trybem życia, a także liczne cechy prokariotyczne, przemawiają za ich długą drogą ewolucyjną. Być może dalsze badania mikrosporydiów przeprowadzone na większym materiale nie tylko potwierdzą swoistość i oryginalność tych organizmów, ale też wykażą, że mikrosporydia są przedstawicielami dotychczas nieznanego królestwa powiązanego filogenetycznie tak z pierwotniakami, jak i grzybami.

We wstępie pracy „System Protista" Karpow (2000) wyraził opinię, że już teraz są podstawy do rozpatrywania mikrosporydiów, jako przedstawicieli odrębnego królestwa. Należy jednak dodać, że już w 1990 r. grupa amerykańsko-niemieckich badaczy (Woese i wsp. 1990) zaproponowała klasyfikację

opartą na genetycznym pokrewieństwie ustalonym w oparciu o sekwencję genów kodujących rybosomalny RNA. Autorzy ci wszystkie znane organizmy podzielili na 3 grupy: Bacteria, Archea, Eucarya, z których każda zawiera kilka królestw. Jednym z królestw w grupie Eucarya są Microsporidia.

POSTĘPY W BUDOWANIU SYSTEMÓW KLASYFIKACYJNYCH MIKROSPORYDIÓW

Podstawą większości klasyfikacji mikrosporydiów była budowa spor i stadiów sporogonii. Większość dotychczas znanych gatunków mikrosporydiów została opisana jeszcze przed epoką mikroskopii elektronowej na podstawie cech takich jak kształt i wymiary spor i sposób ich występowania. Np. spory przedstawicieli rodzajów *Gurleya* i *Tetramicra* występują w grupach po 4, spory gatunków z rodziny Thelohaniidae i Amblyosporidae po 8, Duboscqiidae po 16, a Pleistophoridae w grupach po 32, przy czym spory większości gatunków znajdują się w otoczce. Do czasu mikroskopii elektronowej była to ważna cecha taksonomiczna. Jako dopełniające cechy do identyfikacji gatunków brano pod uwagę specyficzność żywicielską i tkankową. W drugiej połowie XX stulecia stało się oczywiste, że rozdzielczość mikroskopu świetlnego, przy znacznym podobieństwie kształtu spor (jajowate) wszystkich znanych gatunków i ich niewielkich rozmiarach (kilka mikrometrów), jest niewystarczająca do rozróżnienia gatunków. Wprowadzenie metod mikroskopii elektronowej spowodowało ujawnienie nowych, niewidocznych na poziomie mikroskopii świetlnej cech, przydatnych w taksonomii mikrosporydiów. Hazard i Oldacre (1976) byli pierwszymi, którzy wykorzystali dane ultrastrukturalne do diagnostyki nowych rodzajów mikrosporydiów. Po przeprowadzeniu rewizji taksonomicznej mikrosporydiów należących do byłego rodzaju *Thelohania* opisali 8 nowych rodzajów, które utworzyły nową rodzinę Thelohaniidae. Następnym etapem była rewizja taksonomiczna rodziny Pleistophoridae (Canning i Hazard 1982), Tuzetiidae (Larsson 1983), oraz redeskrypcja rodzajów na poziomie mikroskopii elektronowej (Sprague i Vernic 1968, Sprague i wsp. 1972, Canning i Nicholas 1980, Canning i wsp. 1982). Wiele nowych gatunków i rodzajów mikrosporydiów zostało opisanych wyłącznie w oparciu o dane uzyskane w mikroskopie elektronowym. Mikroskop elektronowy stał się głównym instrumentem, niezbędnym do badań mikrosporydiów. Niestety, po wprowadzeniu mikroskopii elektronowej jako głównej metody badań tych pasożytów, powstał problem oznaczenia pozycji systematycznej gatunków, opisanych wcześniej wyłącznie na poziomie mikroskopii świetlnej. Chociaż Weiser (1982) wymienia około 70 cech taksonomicznych, przydatnych do analizy za pomocą mikroskopii świetlnej, oznaczenie pozycji systematycznej większości gatunków mikrosporydiów, wyłącznie na tym poziomie, jest niemożliwe. W roku 1977 w klasyfikacji systematycznej mikrosporydiów został utworzony zbiorowy rodzaj *Microsporidium* dla gatunków wyłączonych z innych rodzajów w czasie rewizji taksonomicznej i dla gatunków, których

rozpoznane cechy nie wystarczyły do zaklasyfikowania ich do jakiegokolwiek z wyróżnionych rodzajów (Sprague 1977). Rodzaj *Microsporidium* został tymczasowym „schroniskiem" dla wielu gatunków, które oczekują na redeskrypcję i nowe klasyfikacje taksonomiczne.

Systematyka mikrosporydiów podlegała wielokrotnym zmianom w miarę rozwoju wiedzy o ich budowie i wprowadzaniu nowych metod badań. Według klasyfikacji Légera i Hessego (1922), rząd Microsporida tworzyły dwa podrzędy – Monocnidina, z jedną nicią biegunową i Dicnidina, posiadające dwie nici biegunowe (za drugą nić pomyłkowo przyjęto wakuolę tylną *Telomyxa*, której spory miały kształt podkowy). Kudo (1924) po raz pierwszy podsumował stan wiedzy o wówczas znanych gatunkach mikrosporydiów i zaproponował klasyfikację, według której rząd Microsporida składał się z dwóch, wyróżnionych przez Légera i Hessego (1922) podrzędów i czterech rodzin (Nosematidae, Coccosporidae, Mrazekiidae, Telomyxidae). W klasyfikacji zaproponowanej w 1964 roku przez Komitet Międzynarodowego Towarzystwa Protozoologicznego (Honigberg i wsp. 1964) mikrosporydia były rozpatrywane jako przedstawiciele typu Protozoa, podtypu Cnidospora, gromady Microsporidea, która składała się z jednego rzędu – Microsporida i dwóch, wyróżnionych przez Légera i Hessego (1922) podrzędów. W klasyfikacji Levine'a (1973) mikrosporydia zostały wydzielone ze Sporozoa w randze podtypu – Microspora, w skład którego wchodziła tylko jedna gromada – Microsporasida. W roku 1977 ukazała się praca Sprague'a „Systematics and Evolution of Microsporidia", w której zostały zebrane wszystkie znane w tym czasie opisy mikrosporydiów i zaprezentowana ich nowa klasyfikacja, zbudowana w oparciu o analizę danych mikroskopii świetlnej i elektronowej. Sprague wyróżnił w typie Microspora dwie gromady – Rudimicrosporea i Microsporea. Do gromady Rudimicrosporea zaliczył prymitywne mikrosporydia posiadające słabo rozwinięty aparat ekstruzyjny i uproszczone cykle rozwojowe. W gromadzie tej wyróżnił rząd Metchnikovellida z rodziną Metchnikovellidae i rodzajami: *Metchnikovella, Amphiacantha, Amphiamblys.* W gromadzie Microsporea, czyli właściwych mikrosporydiów, wyróżnił dwa rzędy: Chytridiopsida z rodzinami: Chytridiopsidae (rodzaje *Chytridiopsis, Steinhausia*), Hesseidae (rodzaj *Hessea*), Burkeidae (rodzaj *Burkea*) oraz rząd Microsporida z dwoma podrzędami: Pansporoblastina (7 rodzin) i Apansporoblastina (6 rodzin), a także zbiorowy rodzaj *Microsporidium.* Za główne cechy taksonomiczne uznał obecność lub brak membranopodobnej otoczki dookoła spor i liczbę spor wytwarzanych wewnątrz tej otoczki. W tym samym czasie pojawiła się klasyfikacja Weisera (1977), według której typ Microsporidia składał się z dwóch gromad: Metchnikovellidea i Microsporididea, różniących się przede wszystkim przebiegiem sporogonii i szczegółami budowy spor. W gromadzie Metchnikovellidea wyróżnił 4 rodzaje: *Metchnikovella, Amphiacantha, Chytridiopsis, Hessea,* zaś w Microsporididea 34 rodzaje, w 6 rodzinach i 2 rzędach. W klasyfikacji Levine'a i wsp. (1980), którzy

podnieśli pierwotniaki do rangi królestwa (królestwo Protista, podkrólestwo Protozoa), Microspora zostały potraktowane jak typ obok 6 innych typów – Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Ascetospora, Myxozoa, Ciliophora. Również Corliss w zaproponowanej w 1984 r. klasyfikacji uznał Microsporidia za typ, jeden z 45, które wyróżnił w obrębie królestwa Protista. W tworzeniu nowego systemu, który miał odzwierciedlać rzeczywiste pokrewieństwa pomiędzy i w obrębie wysokiej rangi taksonów, oparł się głównie na wynikach badań ultrastrukturalnych, ale uwzględnił też morfogenezę. Podobnie Issi (1986) potraktowała Microsporidia jako typ w królestwie Protozoa, a za główną cechę pozwalającą wyróżnić taksony niższych szczebli uznała morfologię aparatu ekstruzyjnego umożliwiającego uwalnianie się zarodka (sporoplazmy) ze spory. Należy zaznaczyć, że żadna z wymienionych klasyfikacji nie została do końca XX wieku przyjęta przez wszystkich protozoologów. Równolegle stosowane były: klasyfikacja amerykańska (Sprague 1977), europejska (Weiser 1977) i system Issi (1986), który zdobył popularność głównie wśród specjalistów z byłego Związku Radzieckiego.

Jedną z najnowszych klasyfikacji jest system zaproponowany przez Sprague'a i wsp. (1992), zbudowany w oparciu o typ jądra komórkowego i sposób jego podziału. Wiadomo, że mikrosporydia posiadają jądra dwóch typów: pojedyncze haplokariony i jądra w postaci diplokarionów. Według Sprague'a i wsp. (1992) typ Microspora, składa się z dwóch gromad – Dihaplophasea i Haplophasea (Tabela 2). Mikrosporydia z gromady Dihaplophasea posiadają jądra w postaci diplokarionów w ciągu całego cyklu rozwojowego lub w niektórych jego fazach. U przedstawicieli rzędu Meiodihaplophasida proces sporogonii rozpoczyna się od redukcyjnego podziału diplokariotycznych jąder, a kończy wytwarzaniem wewnątrz otoczki sporoforowej jednojądrowych spor. Mikrosporydia z nadrodziny Thelohanioidea realizują jednorodny typ sporogonii, natomiast mikrosporydia z pozostałych nadrodzin tego rzędu produkują jedno- i dwujądrowe spory w jednym żywicielu (Burenelloidea), lub mają wielożywicielskie cykle rozwojowe (Amblyosporoidea). Sporogonię u przedstawicieli rzędu Dissociodihaplophasida rozpoczyna dysocjacja diplokariotycznych jąder merogonialnego plazmodium z następnym wytwarzaniem spor posiadających jądra w postaci diplokariotycznej (Nosematoidea), lub jednojądrowych spor (Ovavesiculoidea). Przedstawiciele nadrodziny Culicosporoidea mają złożone cykle rozwojowe i wytwarzają jedno- lub dwujądrowe spory. Mikrosporydia z gromady Haplophasea nie mają diplokariotycznych stadiów w cyklu rozwojowym.

Klasyfikacja Sprague'a i wsp. (1992) ma w ostatnich latach coraz więcej zwolenników, chociaż brak danych dotyczących najwcześniejszych stadiów rozwojowych i sposobu podziału jądra wielu opisanych gatunków mikrosporydiów uniemożliwia określenie ich miejsca w zaproponowanym przez nich systemie. Coraz więcej danych uzyskanych w badaniach molekularnych potwierdza główne zasady tej klasyfikacji, jednakże wiele pytań dotyczących systematyki i filogenezy mikrosporydiów oczekuje na rozwiązanie.

Tabela 2. Klasyfikacja mikrosporydiów według Sprague'a i wsp. (1992)

Typ: Microspora	
Gromada: Dihaplophasea	Gromada: Haplophasea
RZĄD: Meiodihaplophasida	**RZĄD**: Glugeida
Nadrodzina: Thelohanioidea	Rodziny:
Rodziny:	Glugeidae
Thelohaniidae	Pleistophoridae
Duboscqiidae	Encephalitozoonidae
Janacekiidae	Abelsporidae
Pereziidae	Tuzetiidae
Striatosporidae	Microfilidae
Cylindrosporidae	Unikaryonidae
Nadrodzina: Burenelloidea	**RZĄD**: Chytridiopsida
Rodzina: Burenellidae	Rodziny:
Nadrodzina: Amblyosporoidea	Chytridiopsidae
Rodzina: Amblyosporidae	Buxtehudiidae
RZĄD: Dissociodihaplophasida	Enterocytozoonidae
Nadrodzina: Nosematoidea	Burkeidae
Rodziny:	
Nosematidae	
Ichthyosporidiidae	
Caudosporidae	
Pseudopleistophoridae	
Mrazekiidae	
Nadrodzina: Culicosporoidea	
Rodziny:	
Culicosporidae	
Culicosporellidae	
Golbergiidae	
Spragueidae	
Nadrodzina: Ovavesiculoidea	
Rodziny:	
Ovavesiculidae	
Tetramicridae	

PODSUMOWANIE

Sytuacja w poglądach na ewolucję i filogenezę mikrosporydiów na początku XXI wieku nie jest bardziej jasna niż 100 lat temu. Nowe dane, uzyskane dzięki zastosowaniu metod mikroskopii elektronowej, biochemii i biologii molekularnej, spowodowały rewolucyjne zmiany podejścia do budowy systemów klasyfikacyjnych, w tym do określenia miejsca mikrosporydiów wśród organizmów żywych. Jednak nadal bez odpowiedzi pozostają podstawowe pytania: Czy pasożyty te są prymitywnymi organizmami, które oddzieliły się od pozostałych Eukaryota jeszcze przed pojawieniem się mitochondrialnych symbiontów i „wielkiej eksplozji" różnorodności biologicznej, czy też są one jedną z licznych linii powstałych wskutek tej eksplozji, organizmami, których

budowa uległa uwstecznieniu pod wpływem pasożytnictwa wewnątrzkomórkowego? Czy niektóre cechy wspólne z grzybami wskazują na krótszą, niż dotychczas sądzono drogę ewolucyjną mikrosporydiów, czy też świadczą o wiele starszym pochodzeniu grzybów? I czy nie za wcześnie niektórzy autorzy wyeliminowali mikrosporydia z królestwa Protista? Odpowiedzi na te pytania należy szukać w lepszym poznaniu cyklów rozwojowych, ultrastruktury, biochemii i biologii molekularnej tych organizmów. Biorąc pod uwagę szerokie rozpowszechnienie mikrosporydiów wśród żywicieli, należących do wszystkich gromad Animalia i stosunkowo niewielką liczbę gatunków dotychczas poznanych, można przewidywać dalszy wzrost wiedzy o tych pasożytach w miarę odkrywania nowych gatunków i stosowania nowych metod badań.

LITERATURA

Becnel J.J. 1992. Horizontal transmission and subsequent development of *Amblyospora californica* (Microsporida: Amblyosporidae) in the intermediate and definitive hosts. *Diseases of Aquatic Organisms* 13: 17–28.

Becnel J. 1994. Life cycles and host-parasite relationships of Microsporidia in culicine mosquitoes. *Folia Parasitologica* 41: 91–96.

Biderre C., Pagés M., Méténier G., Canning E.U., Vivarès C.P. 1995. Evidence for the smallest nuclear genome (2.9 Mb) in the microsporidium *Encephalitozoon cuniculi*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 74: 229–231.

Blattner F.R., Plunkett G., 3rd, Bloch C.A., Perna N.T., Burland V., Riley M., Collado-Vides J., Glasner J.D., Rode C.K., Mayhew G.F., Gregor J., Davis N.W., Kirkpatrick H.A., Goeden M.A., Rose D.J., Mau B., Shao Y. et al., 1997. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277: 1453–1474.

Canning E.U., Hazard E.I. 1982. Genus *Pleistophora* Gurley, 1893: an assemblage of at least three genera. *Journal of Protozoology* 29: 39–49.

Canning E.U., Hollister W.S. 1991. *In vitro* and *in vivo* investigations of human Microsporidia. *Journal of Protozoology* 38: 631–635.

Canning E.U., Nicholas J.P. 1980. Genus *Pleistophora* (phylum Microspora): redescription of the type species *Pleistophora typicalis* Gurley, 1893 and ultrastructural characterization of the genus. *Journal of Fish Diseases* 3: 317–338.

Canning E.U., Lom J., Nicholas J.P. 1982. Genus *Glugea* Thélohan, 1891 (phylum Microspora): redescription of the type species *Glugea anomala* (Moniez, 1887) and recognition of its sporogonic development within sporophorous vesicles (pansporoblastic membranes). *Protistologica* 18: 193–210.

Cavalier-Smith T. 1989. Archaebacteria and Archezoa. *Nature* 339: 100–101.

Cavalier-Smith T. 1993. Kingdom Protozoa and its 18 phyla. *Microbiological Reviews* 57: 953–994.

Cavalier-Smith T. 1998. A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 73: 203–266.

Corliss J.O. 1984. The kingdom Protista and its 45 phyla. *BioSystems* 17: 87–126.

Curgy J.J., Vavra J., Vivares C. 1980. Presence of ribosomal RNAs with prokaryotic properties in Microsporidia, eukaryotic organisms. *Biology Cellulaire* 38: 49–52.

Edlind T.D. 1998. Phylogenetics of protozoan tubulin with reference to the a mitochondriate eukaryotes. In: *Evolutionary Relationships Among Protozoa* (Eds. G.H. Coombs, K. Vickerman, M.A. Sleigh, A. Warren). Chapman & Hall, New York, 91–108.

Edlind T.D., Li J., Visvesvara G.S., Vodkin M.H., McLaughlin G.L., Katiyar S.K. 1996. Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial Protozoa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5: 359–367.

Fast N.M., Logsdon J.M.,Jr., Doolittle W.F. 1999. Phylogenetic analysis of the TATA box binding protein (TBP) gene from *Nosema locustae*: evidence for a microsporidia-fungi relationship and spliceosomal intron loss. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1415–1419.

Germot A., Philippe H., Le Guyader H. 1997. Evidence for loss of mitochondria in Microsporidia from a mitochondrial-type HSP70 in *Nosema locustae*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 87: 159–168.

Hazard E.I., Oldacre S.W. 1976. Revision of Microsporida (Protozoa) close to *Thelohania*, with descriptions of one new family, eight new genera and thirteen new species. *U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin* 1530: 1–104.

Hirt R.P., Healey B., Vossbrinck C.R., Canning E.U., Embley T.M. 1997. A mitochondrial Hsp70 orthologue in *Vairimorpha necatrix*: molecular evidence that microsporidia once contained mitochondria. *Current Biology* 7: 995–998.

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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 969: 580–585.

Honigberg B.M., Balamuth W., Bovee E.C., Corliss J.O., Gojdics M., Hall R.P., Kudo R.R., Levine N.D., Loeblich A.R. Jr., Weiser J., Wenrich D.H. 1964. A revised classification of the phylum Protozoa. *Journal of Protozoology* 11: 7–20.

Ishihara R. 1968. Some observations on the fine structure of sporoplasm discharged from spores of a microsporidian, *Nosema bombycis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 12: 245–258.

Ishihara R., Hayashi Y. 1968. Some properties of ribosomes from the sporoplasm of *Nosema bombycis*. *Journal of Invertebrate Patholology* 11: 377–385.

Issi I.V. 1986. Microsporidia as a phylum of parasitic Protozoa. In: *Microsporidia Ser. Protozoologiya*, (Eds. T.V. Beyer, I.V. Issi) Nauka, Leningrad, 10: 6–136 (In Russian with English summary).

Jirovec O. 1932. Ergebnisse der Nuclealfärbung an den Sporen der Mikrosporidien nebst einigen Bemerkungen über Lymphocystis. *Archiv für Protistenkunde* 77: 379–390.

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

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

Karpow S.A. 2000. Sistema protistov. 3-izdanije. Sankt Peterburg, Omsk, Izd. OmGPU, 117–125.

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

Keeling P.J., Doolittle W.F. 1996. Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family. *Molecular Biology and Evolution* 13: 1297–1305.

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.

Kudo R.R. 1924. A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. *Illinois Biological Monographs* 9: 1–268.

Larsson R. 1983. A revisionary study of the taxon *Tuzetia* Maurand, Fize, Fenwick and Michel, 1971, and related forms (Microspora, Tuzetiidae). *Protistologica* 19: 323–355.

Leedale G.F. 1974. How many are kingdoms of organisms? *Taxon* 23: 261–270.

Léger L., Hesse E. 1922. Microsporidies bactériformes et essai de systématique du groupe. *Comptes Rendus L'Academie des Sciences Paris* 174: 327–330.

Levine N.D. 1973. Protozoan Parasite of Domestic Animals and of Man. 2nd ed. Burgess, Minneapolis, Minnesota, 1–219.

Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M., Leedale G.F., Loeblich A.R. III, Lom J., Lynn D., Merinfeld E.G., Page F.C., Poljansky G., Sprague V., Vávra J., Wallace F.G. 1980. A newly revised classification of the Protozoa. *Journal of Protozoology* 27: 37–58.

Lom J. 1972. On the structure of the extruded microsporidian polar filament. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 38: 200–213.

Lom J., Vávra J. 1963. The mode of sporoplasm extrusion in microsporidian spores. *Acta Protozoologica* 1: 81–89.

Moura H., da Silva A.J., Moura I.N.S., Schwartz D.A., Leitch G., Wallace S., Pieniazek N.J., Wirtz R.A., Visvesvara G.S. 1999. Characterization of *Nosema algerae* isolates after continuous cultivation in mammalian cells at 37°C. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 14 S.

Naegeli C. 1857. Über die neue Krankheit der Seidenraupe und verwandte Organismen. *Botanische Zeitung* 15: 760–761.

Patterson D.J. 1994. Protozoa: Evolution and Systematics. In: *Progress in Protozoology, Proceedings of the IX International Congress of Protozoology Berlin 25–31 July, 1993.* (Eds. K. Hausmann, N. Hülsmann) Stuttgart, Jena, New York, Gustav Fischer Verlag, 1–14.

Philippe H., Adoutte A.1998. The molecular phylogeny of Eukaryota: solid facts and uncertainties. In: *Evolutionary Relationships among Protozoa* (Eds. G.H Coombs, K. Vickerman, M.A. Sleign, A. Warren). Kluwer, London, 25–56.

Peyretaillade E., Broussolle V., Peyret P., Méténier G., Gouy M., Vivarès C.P. 1998. Microsporidia, amitochondrial protists, possess a 70-k Da heat shock protein gene of mitochondrial evolutionary origin. *Molecular Biology and Evolution* 15: 683–689.

Rodger A.J. 1999. Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *American Naturalist* 154: 146–163.

Sogin M.L, Silberman J.D. 1998. Evolution of the protists and protistan parasites from the perspective of molecular systematics. *International Journal for Parasitology* 28: 11–20.

Sprague V. 1977. Classification and phylogeny of the Microsporidia. In: *Comparative Pathobiology.* (Eds. L.A. Bulla Jr., T.C. Cheng). Plenum Press, New York and London, 2: 1–31.

Sprague V., Vernick S.H. 1968. Light and electron microscope study of a new species of *Glugea* (Microsporidia, Nosematidae) in the 4-spined stickleback *Apeltes quadracus*. *Journal of Protozoology* 15: 547–571.

Sprague V., Ormières R., Manier J.F. 1972. Creation of a new genus and a new family in the Microsporidia. *Journal of Invertebrate Pathology* 20: 228–231.

Sprague V., Becnel J.J., Hazard, E.I. 1992. Taxonomy of phylum Microspora. *Critical Reviews in Microbiology* 18: 285–395.

Starobogatov Ya.I. 1986. K voprosu o chisle carstv eukarioticheskikh organizmov. *Trudy Zoologicheskogo Instituta A.N. SSSR* 144: 4–24.

Stempell W. 1904. Über *Nosema anomalum* Moniez. *Archiv für Protistenkunde* 4: 1–42.

Stempell W. 1909. Über *Nosema bombycis* Naegeli. *Archiv für Protistenkunde* 16: 281–358.

Trammer T., Chioralia G., Maier W.A., Seitz H.M. 1999. *In vitro* replication of *Nosema algerae* (Microsporidia), a parasite of Anopheline mosquitoes, in human cells above 36°C. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 464–468.

Tuzet O., Maurand J., Fize A., Michel R., Fenwick B. 1971. Proposition d'un nouveau cadre systématique pour les genres de Microsporidies. *Comptes Rendus L'Academie des Sciences Paris* 272: 1268–1271.

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

Vossbrinck C.R., Maddox J.V., Friedman S., Debrunner-Vossbrinck B.A., Woese C.R. 1987. Ribosomal RNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes. *Nature* 326: 411–414.

Weiser J. 1977. Contribution to the classification of the Microsporidia. *Věstnik Československé Spolecnosti Zoologické* 41: 308–320.

Weiser J. 1982. Methods of identification of microsporidia with vector control potential. *Proceedings of the IIIrd International Colloquium Institute of Pathology, Brighton*, 393–399.

Weiss L.M., Edlind T.D., Vossbrinck C.R., Hashimoto T. 1999. Microsporidian molecular phylogeny: The fungal connection. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 17–18S.

Whittaker R.H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science* 163: 150–160.

Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87: 4576–4579.