WIADOMOŚCI BOTANICZNE	1987	31	1	29—42

JERZY KRUK

PROCHLORON A PROBLEM EWOLUCJI CHLOROPLASTÓW

PROCHLORON AND THE PROBLEM OF CHLOROPLAST EVOLUTION

Od dawna znany jest fakt występowania symbiotycznych glonów w porostach i w wielu bezkręgowcach. Glony wchodzące w skład porostów należą do zielenic *(Chlorophyta)* lub do sinic *(Cyanobacteria)*. Symbionty wewnątrzkomórkowe, współżyjące ze słodkowodnymi bezkręgowcami (zoochlorelle) np. z pantofelkiem *(Paramecium bursaria)*, pełzakiem *(Amoeba viridis)*, stułbią *(Hydra viridis)* i gąbką *(Ephydatia fluviatilis)*, wykazują cechy zielenic. Natomiast fotoautotroficzne symbionty występujące w morskich bezkręgowcach, m. in. w koralowcach rafotwórczych, małżach, planktonowych otwornicach *(Foraminifera)*, promienicach *(Radiolaria)*, pleustonowych jamochłonach, są przeważnie bruzdnicami *(Dinoflagellata)*. Zoochlorelle, stosunkowo rzadkie w środowisku morskim, wykryto w robakach płaskich (np. u wirka *Convoluta roscoffensis* [13, 37], w ukwiałach *(Actiniaria)* [30] i żachwach *(Ascidiacea)* [18, 31, 46]. Glony występujące w pierwszych dwóch grupach należą do organizmów eukariotycznych, natomiast przynależność systematyczna *Prochloron*, symbiontu kolonijnych żachw, jest kontrowersyjna. Początkowo rodzaj ten był zaliczany do zielenic [6, 46, 52], później do sinic z rodzaju *Synechocystis* [18, 31]. Przynależność systematyczna tego glonu jest wciąż przedmiotem dyskusji.

Prochloron jest jednokomórkowym, fotoautotroficznym organizmem prokariotycznym zdolnym do oksygenicznej fotosyntezy [55]. W przeciwieństwie do innych *Procaryota* zawiera on chlorofil *b* obok chlorofilu *a*, oraz pozbawiony jest barw-

---

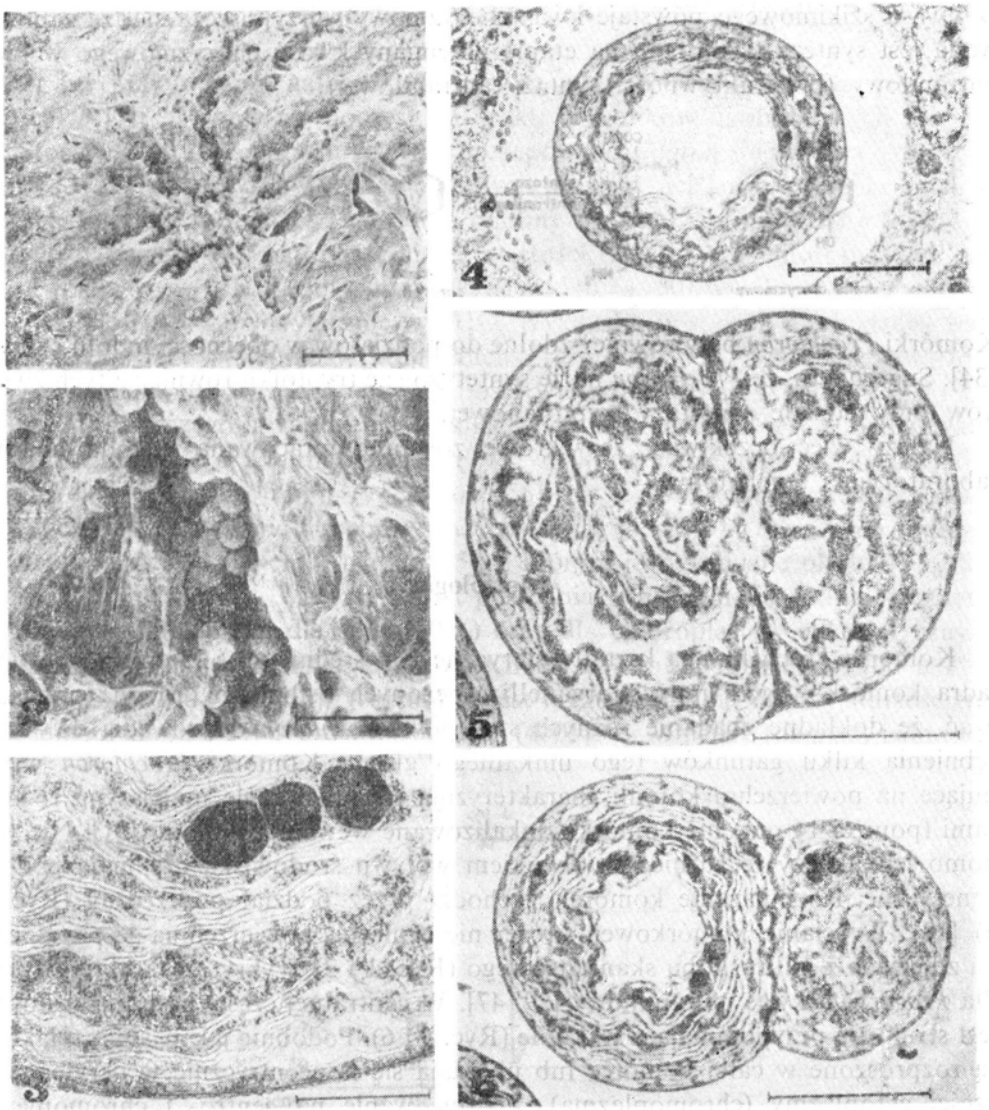
chl — chlorofil
LHC — (light harvesting chlorophyll *a*/*b* protein complex), kompleks chlorofil *a*/*b*-białko zbierający energię
PS I — I układ fotosyntezy
PS II — II układ fotosyntezy
RC_{II} — centrum reakcji PS II
RuBP — rybulozo-1,5-bisfosforan

ników fikobilinowych. Taki skład barwników fotosyntetycznych nadaje komórkom barwę jasnozieloną. Niebieskie lub czerwonawe zabarwienie sinic związane jest z obecnością w ich komórkach barwników fikobilinowych. Wielu badaczy zalicza więc *Prochloron* do odrębnej gromady (działu) prochlorofitów *(Prochlorophyta)* [19], równorzędnej sinicom *(Cyanobacteria, Cyanophyta)* i bakteriom *(Schizomycetes, Bacteria)*. Prochlorofity byłyby reprezentowane przez jeden gatunek: *Prochloron didemni* [20]. Jednak nie wszyscy badacze [1] stoją na stanowisku zaliczenia *Prochloron* do odrębnej gromady. Niektórzy [9] zaproponowali aby fotoautotroficzne *Procaryota* wydzielić w osobną klasę *Photobacteria* i wyróżnić wśród niej dwie podklasy: uwalniające tlen fotosyntetyczny — *Oxyphotobacteria* z rzędami *Cyanobacteriales* i *Prochlorales*, oraz nie uwalniające tlenu — *Anoxyphotobacteria*, do których zaliczono „klasyczne" fotoautotroficzne bakterie. Z drugiej strony, natura barwników fotosyntetycznych *Prochloron*, oraz inne jego cechy, upodobniają ten organizm do chloroplastów eukariotycznych zielenic i roślin wyższych. Fakty te wydają się usprawiedliwiać wydzielenie *Prochloron* w osobną gromadę *Prochlorophyta*.

Występowanie

Liczne doniesienia wskazują, że *Prochloron* występuje tylko w symbiozie z kolonijnymi żachwami, żyjącymi w subtropikalnych i tropikalnych wodach przybrzeżnych Oceanu Spokojnego (np. Hawaje, wybrzeża Australii, Zatoka Kalifornijska) [16, 21]. Dotychczas *Prochloron* został znaleziony na 6 gatunkach żachw z rodziny *Didemnidae*. Żyje on zarówno na powierzchni kolonii (na szarych i białych koloniach *Didemnum carneolentum*), jak również wewnątrz kolonii *Didemnum ternatanum, Diplosoma virens, Lissoclinum patella* i *Tridemnum cyclops*. Prochlorofity żyjące wewnątrz kolonii lokalizują się w zagłębieniach tuniki lub w kloace wspólnej dla całej kolonii [31, 56]. Komórki glonu mogą występować również w postaci pakietów na powierzchni kolonii, w okolicy bruzd aparatu gębowego (Ryc. 1 i 2) [23]. Gatunki żachw, u których prochlorofity występują we wnętrzu kolonii, prawdopodobnie mogą żyć tylko w ich obecności. Jednak z drugiej strony, kilka innych rodzajów żachw, które normalnie rozwijają się bez autotroficznego symbionta, sporadycznie wykazują jego obecność [21]. W takich przypadkach, tego rodzaju symbioza jest bez znaczenia dla gospodarza, natomiast jest konieczna dla prochlorofitów.

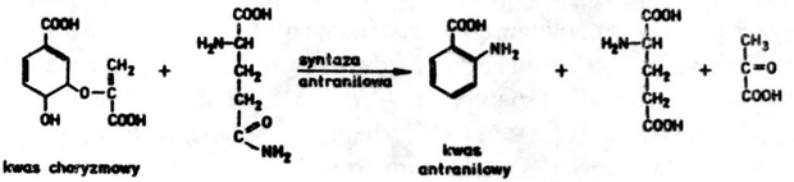
Badania nad *Prochloron* są bardzo utrudnione, gdyż do tej pory nie udało się utrzymać hodowli tego glonu w warunkach laboratoryjnych. Wyjaśnienie biochemicznego podłoża symbiozy *Prochloron*-żachwa umożliwi zapewne opracowanie metody hodowli tego glonu w sztucznych warunkach. Dotychczas badania nad *Prochloron* przeprowadza się wyłącznie na materiale zebranym z naturalnych stanowisk, następnie często zamrażanym lub liofilizowanym. Dlatego z zainteresowaniem spotkała się praca [34], w której wykazano, że tryptofan stymuluje podziały



Ryc. 1, 2. Zdjęcia uzyskane przy użyciu skanningowego mikroskopu elektronowego. Komórki *Prochloron* na powierzchni bruzd aparatu gębowego *Didemnum carneolentum* (Wyspa S. Jose, Zat. Kalifornijska, Meksyk). Kreska oznacza 250 μm [21].
Ryc. 3. Część komórki *Prochloron* z orzęsionego kanału kloacznego *Diplosoma virens*; widoczna jest wielowarstwowa ściana komórkowa, tylakoidy ułożone w pary i karboksysomy. Kreska oznacza 1 μm [21].
Ryc. 4, 5, 6. Komórki *Prochloron* z orzęsionych kanałów kloacznych *Diplosoma virens*; różnicowanie na centro- i chromoplazmę, karboksysomy (4, 6), podział komórkowy przez dośrodkowy wzrost ściany (5, 6). Kreska oznacza 5 μm [21].

komórkowe *Prochloron* poza organizmem gospodarza. Spośród przebadanych 21 aminokwasów tylko w obecności tryptofanu zachodziły podziały komórek i to proporcjonalnie do stężenie aminokwasu [34]. Maksymalny efekt działania tryptofanu obserwowano przy pH 5,5. Ponieważ kwas antranilowy również stymulował podziały komórek, natomiast kwas szikimowy nie wykazywał takiego działania

(z kwasu szikimowego powstaje kwas choryzmowy), przypuszcza się, że zablokowana jest synteza tryptofanu na etapie przemiany kwasu choryzmowego w kwas antranilowy (brak aktywności syntazy antranilowej):



Komórki *Prochloron* były również zdolne do podziałów w obecności indolu i seryny [34]. Sugeruje to, że *Prochloron* może syntetyzować tryptofan również z tych związków przy udziale syntetazy tryptofanowej.

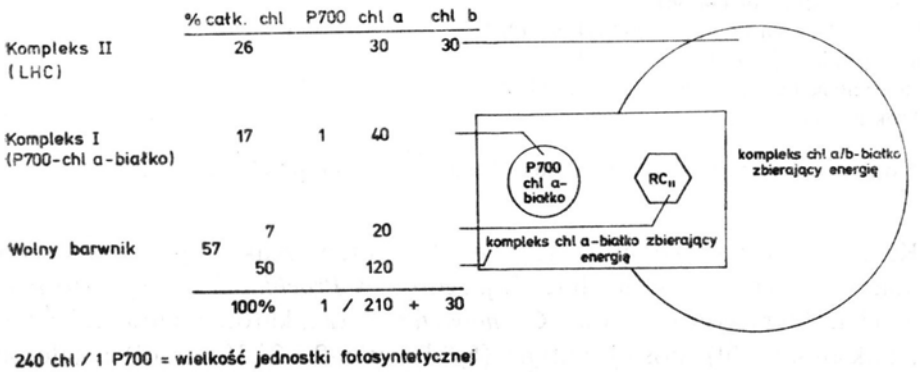
Należy więc oczekiwać, że wkrótce zostanie opracowana metoda hodowli laboratoryjnej tego glonu.

Morfologia

Komórki *Prochloron* są kształtu sferycznego o średnicy 6—25 μm, pozbawione jądra komórkowego i innych organelli otoczonych osłonkami. Można przypuszczać, że dokładne zbadanie różnych szczepów *Prochloron* doprowadzi do wyodrębnienia kilku gatunków tego unikalnego glonu. Komórki *Prochloron* występujące na powierzchni kolonii charakteryzują się przeważnie mniejszymi rozmiarami (poniżej 14 μm) niż komórki zlokalizowane wewnątrz kolonii [31]. Nie wiadomo jednak czy te różnice są wynikiem wpływu środowiska czy mają podłoże genetyczne. Rozmnażanie komórek zachodzi przez podział poprzeczny (Ryc. 5, 6) [18]. W ścianie komórkowej, której nieregularna powierzchnia jest widoczna na zdjęciach z mikroskopu skanningowego (Ryc. 1 i 2), wykryto charakterystyczny dla *Procaryota* kwas muraminowy [29, 47]. W centralnej części komórki widoczna jest struktura przypominająca wakuolę (Ryc. 4 i 6). Podobnie jak u sinic tylakoidy są rozproszone w całej komórce lub układają się koncentrycznie w peryferycznej części cytoplazmy (chromoplazma). Zróżnicowanie na centro- i chromoplazmę występuje również u wielu sinic. W przeciwieństwie do sinic *Prochloron* nie zawiera fikobilisomów i barwników fikobilinowych. Jego tylakoidy łączą się w pary lub w stosy [48, 54] (Ryc. 3). Niewątpliwie przypomina to strukturę chloroplastów zielenic i roślin wyższych. U sinic tylakoidy ułożone parami i pozbawione fikobilisomów wykryto tylko u *Anacystis montana* f. *minor* [5]. W chromoplazmie *Prochloron* widoczne są parakrystaliczne struktury regularnego kształtu, na przekroju heksagonalne, o średnicy około 17,5 μm [43] zwane karboksysomami (ciałkami poliedralnymi), w których zgromadzona jest prawdopodobnie karboksylaza RuBP [3]. U sinic podobne struktury zawierające karboksylazę RuBP występują w centroplazmie lub wokół niej [17].

Barwniki fotosyntetyczne

Jak już wspomniano, najbardziej osobliwą właściwością *Prochloron* jest obecność chl *b* [51, 55] przy równoczesnym braku barwników fikobilinowych [51, 55, 56]. Stosunek chl *a* do chl *b* u różnych szczepów *Prochloron* waha się w granicach 4,4-6,9 [24, 35, 49, 55, 56]. Tylko w skrajnych przypadkach może osiągnąć wartość 2,6 [51], 10,0 [48] lub nawet 12,0 [51]. Podobny stosunek chl *a* do chl *b* (około 6) wykryto u *Euglena* [4], natomiast niższe wartości (2—3) — w chloroplastach zielenic i roślin wyższych. Z dotychczasowych badań [4, 50] wynika, że w roślinach chl *b* jest zlokalizowany wyłącznie w LHC. Wykazano w sposób nie budzący wątpliwości, że LHC występuje w komórkach *Prochloron* [55]. Względna zawartość tego kompleksu odpowiada dokładnie ilości wyliczonej ze stosunku chl *a* do chl *b* [55]. Z powyższego stwierdzenia wynika, że cała pula chl *b* jest zlokalizowana w LHC. Chlorofile *a* i *b* znajdujące się w tym kompleksie stanowią około 26% całkowitej ilości chlorofilu u *Prochloron* [55], co jest wartością znacznie niższą od wyliczonej dla zielenic i roślin wyższych (50%) [4, 50]. U *Prochloron* wykryto również kompleks P700-chl *a*-białko [55], z którym jest związane około 17% całkowitej ilości chlorofilu. Wartość ta jest pośrednia w porównaniu z analogicznymi wartościami, uzyskanymi dla sinic (30%) oraz dla chloroplastów eukariotycznych zielenic (10%) [50]. Stosunek całkowitej ilości chlorofilu do ilości P700 u *Prochloron* wynosi 240± 10 [55]. Wartość ta jest także pośrednia między wartościami wyliczonymi dla sinic (180) i roślin zielonych (400) [50]. Mniejsze rozmiary jednostek



Ryc. 7. Proponowany model organizacji chlorofilu *in vivo* u *Prochloron* [55].

fotosyntetycznych sinic należy przypuszczalnie wiązać z obecnością fikobilin zlokalizowanych w fikobilisomach. Uwzględniając wszystkie barwniki aktywne fotosyntetycznie, wyliczono [53], że wielkość jednostki fotosyntetycznej sinic jest porównywalna z wielkością analogicznej jednostki u *Prochloron*. Proponowany model rozmieszczenia barwników chlorofilowych w jednostce fotosyntetycznej *Prochloron* przedstawiono na Ryc. 7.

Model ten jest zgodny z wcześniej zaproponowanym modelem jednostki fotosyntetycznej sinic i roślin zielonych [50]. Kompleks chl *a*/*b*-białko u *Prochloron* pełni więc funkcję anteny energetycznej przekazującej zaabsorbowaną energię do centrum reakcji PS II [55] z podobną wydajnością jak to ma miejsce w jednostce fotosyntetycznej zielenic, np. u *Chlorella* [56]. Zatem pod względem budowy i funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego, *Prochloron* zajmuje pośrednie miejsce między sinicami i chloroplastami zielenic.

Skład karotenoidów *Prochloron* jest bardziej zbliżony do karotenoidów sinic (zwłaszcza występujących u *Phormidium persicinum*), niż zielenic.

Tabela I

Skład procentowy karotenoidów *Prochloron* [55] i sinic: *Phormidium persicinum* [12], *Nostoc commune* [12]

Karotenoid	Zawartość karotenoidów (%)		
	Prochloron	*Phormidium persicinum*	*Nostoc commune*
β-karoten (β,β-karoten)	63—71	69	39
mutatochrom (5,8-epoksy-5,8-dihydro-β,β-karoten)	3	4	—
izokryptoksantyna (β,β-karoten-4-ol)	1	nie badano	nie badano
kryptoksantyna (β,β-karoten-3-ol)	2—7	—	—
zeaksantyna (β,β-karoten-3,3'-diol)	19—25	19	10
echinenon (β,β-karoten-4-on)	3	1	17
trihydroksykaroten (β,β-karoten-3,4,4'-triol?) *	1	7	—
kaloksantyna (β,β-karoten-2,3,3'-triol)	—	—	8
nostoksantyna (β,β-karoten-2,3,2'3'-tetraol)	—	—	7
miksoksantofil	—	—	8

* oznaczenie pozycji grup hydroksylowych nie zostało dobrze udokumentowane

Karotenoidy wykryte u *Prochloron* (β-karoten, zeaksantyna, echinenon) występują powszechnie u wielu sinic [12]. Jednak w *Prochloron* nie wykryto karotenoidów charakterystycznych dla *Cyanobacteria*, tzn. karotenoidów glikozydowych (np. miksoksantofil), nostoksantyny (β,β-karoten-2,3,2',3'-tetraol) i kaloksantyny (β,β-karoten-2,3,3'-triol) [45]. Obecność tych karotenoidów może stanowić niejako biochemiczne kryterium przynależności danego organizmu do *Cyanobacteria*. Spośród dotychczas przebadanych sinic nie wykryto tych barwników tylko w *Phormidium persicinum* i *Ph. ectocarpi* [12].

Jeżeli uwzględni się, że *Prochloron* jest pozbawiony karotenoidów występujących w zielenicach, takich jak wiolaksantyna, neoksantyna, α-karoten, luteina i loroksantyna [36], to wówczas wydaje się on być znacznie bliżej spokrewniony z *Cyanobacteria* niż z *Chlorophyta*.

Analizując skład barwników karotenoidowych można więc swierdzić, że *Prochloron* nie zaszedł w ewolucji dalej niż współczesne sinice.

Lipidy

We frakcji lipidowej komórek *Prochloron* wykryto nieoczekiwanie względnie dużą zawartość cholesterolu. Na cholesterol przypada około 27% wszystkich steroli [35], podczas gdy u sinic analogiczna wartość wynosi 3,5—14%, a u zielenic — tylko 0—2,5% [32]. Interesującym faktem było również wykrycie u *Prochloron* monoglukozylodiacyloglicerolu (GluDG) [41], który występuje także u sinic [7, 39], natomiast nie wykryto go w chloroplastach *Eucaryota*. Inne glikolipidy, takie jak monogalaktozylodiacyloglicerol (GalDG), digalaktozylodiacyloglicerol (Gal_2DG) i sulfochinowozylodiacyloglicerol (SqDG), występują powszechnie w sinicach oraz w chloroplastach roślin zielonych. Z fosfolipidów w sinicach występuje tylko fosfatydyloglicerol (PG), natomiast brak jest fosfatydylocholiny i fosfatydyloetanoloaminy, tzn. fosfolipidów, które obok PG występują w chloroplastach zielenic i roślin wyższych. Ograniczenie występowania GluDG do *Procaryota* spowodowane jest odrębnymi szlakami biosyntezy galaktolipidów u *Procaryota* i *Eucaryota*. U sinic i innych prokariontów GluDG powstaje w wyniku przeniesienia reszty glukozy z UDP-Glu na diacyloglicerol [40], a następnie lipid ten przekształcany jest w GalDG przez epimeryzację części cukrowej [39]. W chloro-

Tabela II

Skład procentowy gliko-i fosfolipidów u *Prochloron* [41]

Lipid	Zawartość w nmol/mg suchej masy	Zawartość w %
GluDG	0,50	3,2
GalDG	8,65	55,3
Gal_2DG	1,63	10,4
SqDG	4,03	25,7
PG	0,85	5,4
Razem	15,66	100,0

Tabela III

Kwasy tłuszczowe w gliko- i fosfolipidach *Prochloron* [41] *

Kwas tłuszczowy	Zawartość kwasów tłuszczowych w %				
	GluDG	GalDG	Gal_2DG	SqDG	PG
mirystynowy (14:0)	5	1	1	17	2
tetradecenowy (14:1)	7	17	19	2	2
palmitynowy (16:0)	54	35	26	70	59
heksadecenowy (16:1)	34	47	54	11	37

* kwasy tłuszczowe o zawartości poniżej 1% pominięto.

plastach GalDG jest bezpośrednio wytwarzany przez przeniesienie galaktozy z UDP-Gal na diacyloglicerol [38]. Z danych przytoczonych w tabeli II wynika, że gliko- i fosfolipidy zidentyfikowane u *Prochloron* są typowe dla sinic (brak fosfatydylocholiny, fosfatydyloetanoloaminy i obecność GluDG). Jednak względna zawartość GluDG u *Prochloron* wynosząca 3,2% jest o wiele wyższa niż np. u *Anabaena variabilis* (1%) [39] i innych sinic (0,1%) [7]. Jak wynika z tabeli III, lipidy *Prochloron* nie zawierają w znaczących ilościach wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [35, 41], które są charakterystyczne dla *Eucaryota*. Pod względem składu kwasów tłuszczowych *Prochloron* przypomina sinice z rzędu *Chroococcales* [14]. Należało również odpowiedzieć na pytanie czy kwas heksadecenowy występujący w PG jest kwasem palmitooleinowym (charakterystyczny dla sinic) czy kwasem trans-3-heksadecenowym, występującym w chloroplastach roślin wyższych i zielenic. Stosując chromatografię gazową wykazano, że PG z *Prochloron* zawiera kwas palmitooleinowy [41].

Ze względu na skład lipidów, *Prochloron* bardzo przypomina sinice, jednak względnie wysoka zawartość cholesterolu i GluDG nie wskazuje na pośrednie stanowisko między *Cyanobacteria* a *Chlorophyta*.

Kwasy nukleidowe

Prochloron posiada własny, nie związany z białkami DNA, oraz kwasy rybonukleinowe. Rybosomy występujące u *Prochloron* są typowe dla *Procaryota* tzn. posiadają stałą sedymentacji 70S [49] i składają się z dwóch podjednostek 50S i 30S. W większej podjednostce występuje 23S rRNA [21] oraz 5S rRNA [28], natomiast w mniejszej podjednostce występuje 16S rRNA [21].

Pokrewieństwo między organizmami dość często określa się na podstawie stopnia homologii nukleotydów we fragmentach nici RNA, uzyskanych w wyniku działania rybonukleazą T_1.

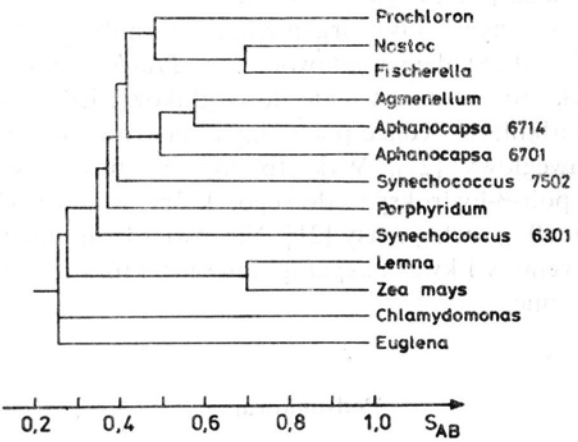
Stopień homologii kwasów nukleinowych dwóch organizmów (A i B) można wyrazić przez tzw. binarny współczynnik zgodności S_{AB} (ang. binary matching coefficient). Współczynnik S_{AB} między organizmami A i B można wyliczać metodą Dice'a [8]:

$$S_{AB} = \frac{2N_{AB}}{N_A + N_B}$$

gdzie: N_A — całkowita liczba nukleotydów reprezentowanych przez oligomery występujące u organizmu *A*, N_B — całkowita liczba nukleotydów reprezentowanych przez oligomery występujące u organizmu *B*, N_{AB} — całkowita liczba nukleotydów reprezentowanych przez wszystkie zgodne oligomery między organizmami *A* i *B*.

Stosując tę metodę nie wykryto szczególnego pokrewieństwa między *Prochloron*

a chloroplastami zielenic, ani między *Prochloron* a chloroplastami roślin wyższych [44]. 16S rRNA z *Prochloron* wykazuje wiele wspólnych oligonukleotydów względem 16S rRNA, który wyizolowano z sinic: *Agmenellum quadruplicatum* [37], *Fischerella ambigua* [35], *Aphanocapsa* 6714 [32] i *Aphanocapsa* 6701 [31]. Współczynniki S_{AB} dla tych sinic i *Prochloron* są tak wysokie (0,42—0,51), jak między *Aphanocapsa* i *Agmenellum* (0,46—0,50) oraz *Nostoc*-szczep MAC i *Fischerella*, natomiast *Synechococcus* wykazywał mniejszy stopień homologii z *Prochloron* i z innymi sinicami (0,34—0,45). Chloroplasty *Porphyridum cruentum*, *Zea mays* i *Lemna* wykazują podobnie niski współczynnik S_{AB} względem *Prochloron* (0,31—0,35) [44]. Różnice we współczynnikach S_{AB} pomiędzy chloroplastami *Euglena gracilis*-szczep Z i *Chlamydomonas reinhardii*-szczep II/32—90 a *Prochloron* są nawet mniejsze niż pomiędzy *Prochloron* a roślinami wyższymi. Na podstawie wyliczonych współczynników S_{AB} można przedstawić na dendrogramie hipotetyczne powiązania genealogiczne badanych organizmów:



Ryc. 8. Drzewo genealogiczne wykreślone na podstawie analizy wsp. S_{AB} [8]. (Miejsce odgałęzienia linii ewolucyjnej prowadzącej do *Euglena* i *Chlamydomonas* jest mało prawdopodobne).

Z powyższych danych wynika, że *Prochloron* nie może być uważany za bezpośredniego potomka organizmów, które należały do linii ewolucyjnej sinice — chloroplasty. Chociaż *Prochloron* pod względem składu barwników fotosyntetycznych przypomina chloroplasty zielenic i roślin wyższych, nie jest z nimi jednak spokrewniony (mała wartość współczynnika S_{AB}). Wysoka wartość wsp. S_{AB} pomiędzy *Prochloron* a sinicami wskazuje na filogenetyczne pokrewieństwo tych glonów. Wydaje się więc, że *Prochloron* stosunkowo „niedawno" oddzielił się od linii ewolucyjnej prowadzącej do współczesnych sinic.

Interesujące byłoby włączenie do badań nad homologią 16S rRNA wspomnianej sinicy *Phormidium persicinum*, która najbardziej przypomina *Prochloron* pod względem składu karotenoidów.

Inne składniki

Badania nad enzymami *Prochloron* ujawniły obecność Fe-Mn dysmutazy ponadtlenkowej [21] charakterystycznej dla *Procaryota*, natomiast nie wykryto dysmutazy typu Cu-Zn, zwykle występującej w cytoplazmie roślin eukariotycznych. Ekstrakty komórkowe *Prochloron* nie wykazywały aktywności katalazy [21]. Stosunkowo dużo uwagi poświęcono karboksylazie RuBP, co wydaje się być w pełni uzasadnione, gdyż badania porównawcze struktury i właściwości tego enzymu mogą mieć znaczenie dla wyjaśnienia ewolucji organizmów autotroficznych. Karboksylaza RuBP zidentyfikowana u interesującego nas organizmu [3] składa się z 16 podjednostek: 8 dużych i 8 małych o masach cząsteczkowych odpowiednio 57500 i 18800. Wartości te są zbliżone do mas cząsteczkowych dużych i małych podjednostek karboksylazy RuBP która dominuje w przyrodzie [26, 27]. Istnieją również przesłanki wskazujące na obecność karboksylazy RuBP w karboksysomach *Prochloron* [3]. Obok karboksylazy RuBP, w ekstraktach z komórek została wykryta także fosforybulokinaza [3]. Enzymy te występowały w ilościach porównywalnych z ich zawartością w innych mikroorganizmach asymilujących CO_2[25].

W czasie badań nad składem węglowodanów *Prochloron* nie udało się wykryć sacharozy [21]. Wykryto natomiast małe ilości glukozy, jeden pięcio-i dwa czterowęglowe cukry lub alkohole będące pochodnymi cukrów, oraz niezidentyfikowany związek dziewięciowęglowy [21]. Wykryto również fitoglikogen, natomiast nie znaleziono kwasu poli-β-hydroksymasłowego, który w pewnych bakteriach gramujemnych stanowi 60% suchej masy [21]. Nie stwierdzono także obecności cjanoficyny (kopolimer argininy i kwasu asparaginowego), która jest charakterystycznym składnikiem wielu sinic.

Podsumowanie

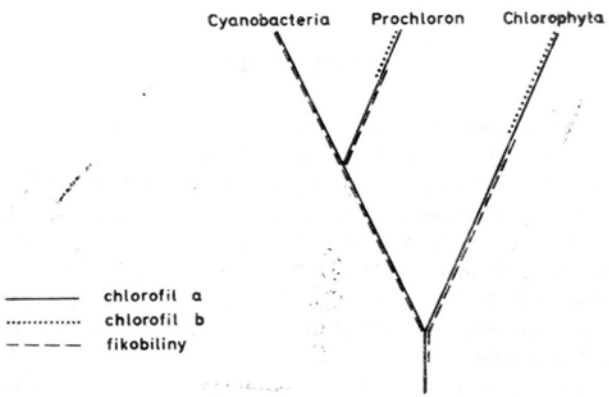
Z przedstawionych wyżej faktów wynika, że z jednej strony *Prochloron* wykazuje cechy chloroplastów zielenic i roślin wyższych (obecność chl *b* w kompleksach zbierających energię, brak fikobilisomów i barwników fikobilinowych, obecność podwójnych lamelli lub nawet struktur przypominających grana), a z drugiej strony posiada typowe cechy sinic (budowa ściany komórkowej, skład karotenoidów, lipidów, kwasów tłuszczowych, obecność karboksysomów oraz sekwencja nukleotydów w 16S rRNA). Wydaje się, że komórek *Prochloron* nie można uważać za organizmy wywodzące się od plastydów zielenic. Istnieją bowiem hipotezy, według których plastydy miałyby wydostać się z komórek zielenic i uzyskać zdolność egzystowania poza gospodarzem [42].

Z analizy cech biochemicznych wynika, że *Prochloron* należy traktować jako boczną linię ewolucyjną *Cyanobacteria*. Linia ta prawdopodobnie stosunkowo niedawno, w ewolucyjnej skali czasu, oddzieliła się od sinic. Z rozważań tych wynikałoby, że pojawienie się w ewolucji chl *b*, utrata fikobilin i wzajemne łączenie się tylakoidów zaszło niezależnie dwiema drogami. Twierdzenie, że biosynteza

chl *b* została „wynaleziona" tylko raz w ewolucji życia na Ziemi i jest niezwykle konserwatywną cechą, wydaje się być nieuzasadnione. Wobec tego można przypuścić, że *Prochloron* niezależnie od zielenic nabył zdolność wytwarzania chl *b* (np. przez mutację lub zaadoptowanie odpowiedniego plazmidu z roślin zielonych) i pozbył się aparatu genetycznego odpowiedzialnego za biosyntezę fikobilin [21]. Chlorofil *b* i fikobiliny pełnią w fotosyntezie podobne funkcje, tzn. uczestniczą w zbieraniu i transporcie energii świetlnej na centrum reakcji PS II. Można przypuszczać, że obecność szlaku biosyntezy chl *b*, prowadzi do zahamowania biosyntezy fikobilin na zasadzie „konkurencji".

Te dwa zjawiska mogłyby być ze sobą sprzężone, co wynika również z faktu, iż do tej pory nie znaleziono organizmów, u których występowałby równocześnie chl *b* i fikobiliny.

W wyniku dalszej ewolucji powstały tylakoidy łączące się w pary lub w większe struktury przypominające grana. Przyjmuje się dzisiaj, że w regionach podwójnych lamelli występują PS I PS II, natomiast w pojedynczych lamellach — tylko PS I [33]. Pogląd ten oparty jest na wynikach analizy elektronogramów powierzchni tylakoidów. Stosując technikę kriorytownictwa wykazano, że na powierzchni tylakoidów gran przeważają cząstki o średnicy 17,5 nm, natomiast na tylakoidach stromy widoczne są tylko cząstki o średnicy 11 nm [2]. Większym cząstkom przypisuje się aktywność PS II, natomiast mniejszym — aktywność PS I [2]. Wykryto



Ryc. 9

również pewną korelację pomiędzy stopniem rozbudowy gran a aktywnością PS II, czego dowodem byłaby nieznaczna aktywność PS II w chloroplastach pochwy okołowiązkowej u niektórych roślin typu C_4, gdzie mogą występować chloroplasty o zredukowanej liczbie gran. Stwierdzono również, że aktywność PS II w rozwijających się chloroplastach pojawia się później niż aktywność PS I [11, 15], co jest prawdopodobnie związane z późniejszym wykształceniem gran. Podobną dystrybucję cząstek wykryto w strukturach lamellarnych *Prochloron* [10]. Zarówno u *Prochloron* jak i roślin zielonych ułożenie tylakoidów w stosy wydaje się być

nierozerwalnie związane z obecnością chl *b*. Przypuszcza się, że adhezja tylakoidów jest wyłącznie biomechaniczną konsekwencją obecności kompleksu chl *a*/*b*-białko [22]. Opierając się na powyższych przesłankach można dojść do wniosku, że następstwem pojawienia się zdolności biosyntezy chl *b* u organizmu posiadającego fikobiliny i pojedyncze tylakoidy była utrata barwników fikobilinowych oraz układanie się tylakoidów w stosy.

Ilustracja wyżej wymienionych rozważań nad powiązaniem genealogicznym *Prochloron*, *Cyanobacteria* i *Chlorophyta* z uwzględnieniem przypuszczalnej ewolucji barwników fotosyntetycznych przedstawiona jest na ryc. 9.

Możliwe, że kolejność pojawiania się barwników fotosyntetycznych była inna niż na ryc. 9 (np. chl *b* przed fikobilinami), lecz nie budzi wątpliwości umiejscowienie *Prochloron* na wspólnej linii ewolucyjnej z sinicami.

Pomimo, że *Prochloron* nie może być uważany na brakujące ogniwo między sinicami a chloroplastami zielenic, to jednak glon ten jest niewątpliwie osobliwością świata organicznego i stanowi nowy materiał do rozważań nad biochemiczną ewolucją organizmów.

Pragnę podziękować Panu prof. dr. hab. Stanisławowi Więckowskiemu za krytyczne uwagi w czasie pisania tej pracy oraz za pomoc w przygotowaniu pracy do druku.

LITERATURA

[1] Antia N. J., 1977. A critical appraisal of Lewin's *Prochlorophyta*, Brit. Phycol. J., 12:271—276.

[2] Arnzen C. J., Dilley R. A., Crane F. L., 1969. A comparison of chloroplast membrane surfaces visualised by freeze-etch and negative staining techniques; and ultrastructural characterisation of membrane fractions obtained from digitonin-treated spinach chloroplasts, J. Cell Biol., 43:16—31.

[3] Berhow M. A., Mc Fadden B. A., 1983. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase and phosphoribulokinase in *Prochloron*, Planta, 158:281—287.

[4] Brown J. S., Alberte R. S., Thornber J. P., French C. S., 1974. Comparisons of spectral forms of chlorophyll in protein complexes isolated from diverse groups of plants, Carnegie Inst. Washington, Year Book 73:694—706.

[5] Echlin P., 1964. The fine structure of the blue-green alga *Anacystis montana f. minor* grown in continuous illumination, Protoplasma, 58:439—457.

[6] Eldredge L. G., 1967. A taxonomic review of Indo-Pacific didemnid ascidians and descriptions of 23 Central Pacific species, Micronesica, 2:161—261.

[7] Feige G., Heinz B., Wrage K., Cochems N., Ponzelar E., 1980. Discovery of a new glycerolipid in blue-green algae and its role in galactolipid biosynthesis, (w) Biogenesis and Function of Plant Lipids, (red.), Mazliak P., Benveniste P., Costes C., Douce R., str. 135—140, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.

[8] Fox G. E., Pechman K. R., Woese C. R., 1977. Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: molecular approach to procaryotic systematics, Int. J. Syst. Bact., 27:44—57.

[9] Gibbons N. E., Murray R. G. E., 1978. Proposals concerning the higher taxa of bacteria, Int. J. Syst. Bact., 28:1—6.

[10] Giddings T. H., Withers N. W., Staehelin L. A., 1980. Supramolecular structure of stacked and unstacked regions of the photosynthetic membranes of *Prochloron* sp., a prokaryote, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:352—356.

[11] Glydenholm A. O., Whatley F. R., 1968. The onset of photophosphorylation in chloroplasts isolated from developing bean leaves, New Phytol., 67: 461—468.
[12] Hertzberg S., 1971. Liaaen-Jensen S., The carotenoids of blue-green algae, Phytochem., 10: 3121—3127.
[13] Keeble F. W., 1907. The origin and nature of the green cells of *Convoluta roscoffensis*, Quart. J. Microscop. Sci., 51:167—219.
[14] Kenyon C. N., 1972. Fatty acid composition of unicellular strains of blue-green algae, J. Bact., 109:827—834.
[15] Kirk J. T. O., 1971. Chloroplast structure and biogenesis, Ann. Rev. Biochem., 40:161—196.
[16] Kott P, 1980. Algal-bearing didemnid ascidians in the Indo-West-Pacific, Mem. Qd. Mus., 20: 1—47.
[17] Lanaras T., Codd G. A., 1981. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase and polyhedral bodies of *Chlorogloeopsis fritischi*, Planta, 153:279—285.
[18] Lewin R. A., 1975. A marine *Synechocystis (Cyanophyta, Chlorococcales)* epizoic on ascidians, Phycologia, 14:153—160.
[19] Lewin R. A., 1976. Prochlorophyta as a proposed new division of algae, Nature, 261:697—698.
[20] Lewin R. A., 1977. Prochloron, type genus of the *Prochlorophyta*, Phycologia, 16:217.
[21] Lewin R. A., 1981. The Prochlorophytes, (w) The Procaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria, (red.) Starr M. P., Stolp H., Trüper H. G., Balows A., Schlegel H. G., str. 257—266, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
[22] Lewin R. A., 1983. The problems of *Prochloron*, Ann. Microbiol., 134 B:37—41.
[23] Lewin R. A., Cheng L., 1975. Associations of microscopic algae with didemnid ascidians, Phycologia, 14:149—152.
[24] Lewin R. A., Withers N. W., 1975. Extraordinary pigment composition of a prokariotic alga, Nature, 256:735—737.
[25] Mc Fadden B. A., 1978. Assimilation of one-carbon compounds, (w) The bacteria, t. 6, str. 219—303, (red.) Ornston L. N., Sokatch J. R., Academic Press, New York, London.
[26] Mc Fadden B. A., 1980. A perspective of ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase, the key catalyst in photosynthesis and photorespiration, Acc. Chem. Res., 13:394—399.
[27] Mc Fadden B. A., Purohit K., 1978. Chemosynthetic, photosynthetic and cyanobacterial ribulose bisphosphate carboxylase, (w) Photosynthetic carbon assimilation, str. 179—208, (red.) Siegelman H. W., Hind G., Plenum Press, New York.
[28] Mc Kay R. M., Salgado D., Bonen L., Stackebrandt E., Doolittle W. F., 1982. The 5S ribosomal RNAs of *Paracoccus denitrificans* and *Prochloron*, Nucleic Acids Res., 10:2963—2970.
[29] Moriarty D. J. W., 1978. Muramic acid in the cell walls of *Prochloron*, Arch. Microbiol., 120:191—193.
[30] Muscatine L., 1971. Experiments on green algae coexistent with zooxanthellae in sea anemones, Pacific Science, 25:13—21.
[31] Newcomb E. H., Pugh T. D., 1975. Blue-green algae associated with ascidians of the Great Barrier Reef, Nature, 253:533—534.
[32] Paoletti C., Pushparaj B., Florenzano G., Capella P., Lercker G., 1976. Unsaponifiable matter of green and blue-green algal lipids as a factor of biochemical differentiation of their biomasses. II. Terpenic alcohol and sterol fractions, Lipids, 11:266—271.
[33] Park R. B., Sane P. V., 1971. Distribution of function and structure in chloroplast lamellae, Ann. Rev. Plant Physiol., 22:395—430.
[34] Patterson G. M .L., Withers N. W., 1982. Laboratory cultivation of *Prochloron*, a tryptophan auxotroph, Science, 217:1034—1035.
[35] Perry G. J., Gillan F. T., Johns R. B., 1978. Lipid composition of a prochlorophyte, J. Phycol., 14:369—371.
[36] Powls R., Britton G., 1977. A series of mutant strains of *Scenedesmus obliiquus* with abnormal carotenoid composition, Arch. Microbiol., 113:275—280.
[37] Provasoli L., Yamasu T., 1968. Experiments on the resynthesis of symbiosis in *Convoluta roscoffensis* with different flagellata cultures, J. Mar. Biol. Ass., 48:465—479.

[38] Rougham P. G., Slack C. R., 1982. Cellular organization of glycerolipid metabolism, Ann. Rev. Plant Physiol., 33:97—132.
[39] Sato N., Murata N. 1982. Lipid biosynthesis in the blue-green alga *Anabaena variabilis*. I. Lipid classes, Biochim, Biophys. Acta, 710:271—278.
[40] Sato N., Murata N., 1982. Lipid biosynthesis in the blue-green alga *(Cyanobacterium)*, *Anabaena variabilis*. III. UDP-glucose: diacyloglycerol glucosyltransferase activity *in vitro*, Plant Cell Physiol., 23:1115—1120.
[41] Sato N., Murata N., 1983. Analysis of lipids in *Prochloron sp.*: Occurence of monoglucosyl diacyloglycerol, Plant Cell Physiol., 24: 133—138.
[42] Schenk H. E. A., 1977. Inwieweit können biochemische Untersuchungen der Endocyanosen zur Kärung der Plastiden beitragen? Archiv für Protistenkunde, 119:274—300.
[43] Schulz-Baldes M., Lewin R. A., 1976. Fine structure of *Synechocystis didemni (Cyanophyta: Chroococcales)*, Phycologia, 15:1—6.
[44] Seewaldt E., Stackebrandt E., 1982. Partial sequence of 16S ribosomal RNA and the phylogeny of *Prochloron*, Nature, 295:617—620.
[45] Smallidge R. L., Quackenbush F. W., 1973. β,β-carotene-2,3,3'-triol: a new carotenoid in *Anacystis nidulans*, Phytochem., 12:2481—2482.
[46] Smith H. G., 1935. On the presence of algae in certain *Ascidiaceae*, Amer. Mag. Nat. Hist., 15: 615—620.
[47] Stackebrandt E., Kandler O., 1982. The murein type of *Prochloron*, Zbl. Bakt., I. Abt. Orig., 3:354—357.
[48] Thinh L.-V., 1978. Photosynthetic lamellae of *Prochloron (Prochlorophyta)* associated with the ascidian *Diplosoma virens* (Hartmeyer) in the vicinity of Townsville, Aust. J. Bot., 26:1—4.
[49] Thinh L.-V., Griffiths D. J., 1977. Studies on the relationship between the ascidian *Diplosoma virens* and its associated microscopic algae. I. Photosynthetic characteristics of the algae, Aust. J. Mar. Freshwater Res., 28:673—681.
[50] Thornber J. P., Alberte R. S., Hunter F. A., Shiozawa J. A., Kan K. S., 1977. The organization of chlorophyll in the plant photosynthetic unit, Brookhaven Symp. Biol., 28: 132—148.
[51] Thorne S. W., Newcomb E. H., Osmond C. B., 1977. Identification of chlorophyll *b* in extracts of procaryotic algae by fluorescence spectroscopy, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:575—578.
[52] Tokioka T., 1967. Pacific Tunicata of the U. S. National Museum, U. S. Natl. Museum, Bull. 251.
[53] Wang R. T., Stevens C. L. R., Meyers J., 1977. Action spectra for photoreactions I and II of photosynthesis in the blue-green alga *Anacystis nidulans*, Photochem. Photobiol., 25:103—108.
[54] Whatley J., 1977. The fine structure of *Prochloron*, New Phytol., 79:309—313.
[55] Withers N. W., Alberte R. S., Lewin R. A., Thornber J. P., Britton G., Goodwin T. W., 1978. Carotenoids, chlorophyll-protein composition, and photosynthetic unit size of *Prochloron sp.*, a prokaryotic green alga, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75:2301—2305.
[56] Withers N. W., Vidaver W., Lewin R. A., 1978. Pigment composition, photosynthesis and fine structure of a non-blue-green prokaryotic algal symbiont *(Prochloron sp.)* in a didemnid ascidian from Hawaiian waters, Phycologia, 17:167—171.

Jerzy Kruk
Instytut Biologii Molekularnej UJ, Al. Mickiewicza 3, Kraków