

Los genomas mitocondriales: ¿Qué nos dicen sobre la evolución de las algas verdes?

E. Rodríguez-Salinas,* D. González-Halphen*

RESUMEN. El número de genomas mitocondriales de algas verdes secuenciados va en aumento constante. Sin embargo, estudios comparativos han revelado que los distintos genomas mitocondriales poseen una organización, estructura y contenido de genes muy diferentes. Durante la historia evolutiva de las algas verdes han ocurrido eventos de transferencia de genes del genoma mitocondrial al genoma nuclear. Esta implacable transferencia de genes ha contribuido a definir el contenido de genes del genoma mitocondrial y a la vez ha incrementado la complejidad del genoma nuclear. En esta revisión se analiza la relación que existe entre la evolución de los genomas mitocondriales y nucleares en el linaje de las algas clorofíceas. También se describen rearrreglos genómicos poco frecuentes que probablemente hayan ocurrido una sola vez a lo largo de la historia evolutiva de este linaje y por lo tanto pueden ser útiles en estudios filogenéticos.

Palabras clave: Evolución de los genomas mitocondriales, algas verdes, fragmentación de genes, ATP sintasa mitocondrial.

ABSTRACT. The number of completely sequenced green algal mitochondrial genomes is expanding rapidly. However, comparative studies have revealed very different mitochondrial genome organizations, structures and gene contents. Gene transfer events from mitochondrial DNA to the nucleus have occurred during the evolutionary history of green algae. This genetic flux has shaped mitochondrial genome content and has increased nuclear genome complexity. This review examines the relationship between mitochondrial and nuclear genome evolution in the chlorophycean lineage of green algae and describes rare genome arrangements that are unlikely to have occurred twice during the evolutionary history of this lineage and therefore can be used in phylogenetic studies.

Key words: Mitochondrial genome evolution, green algae, gene fragmentation, mitochondrial ATP synthase.

INTRODUCCIÓN

Las algas verdes constituyen un grupo de organismos muy diverso. La diversidad se observa a nivel de su hábitat, morfología (Lewis y McCourt 2004), reproducción (Margulis y Schwartz 1998) y a nivel genómico (<http://genome.jgi-psf.org/> y <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/Genomes-Group.cgi?taxid=33090&opt=organelle>). Estudios basados en las características bioquímicas, fisiológicas y estructurales de las plantas terrestres y de las algas verdes sugieren que los ancestros de las algas verdes son los progenitores unicelulares de las plantas (Margulis y Schwartz 1998 y Lewis y McCourt 2004). Actualmente, las plantas terrestres conforman el linaje *Viridiplantae* que se divide en los *phyla* *Streptophyta*, que contiene a las embriófitas y carófitas, y *Chlorophyta*, que contiene a la mayoría de las algas verdes. El *phyla* *Chlorophyta* consiste en tres clases monofiléticas

denominadas *Ulvophyceae*, *Trebouxiophyceae* y *Chlorophyceae*; y en una clase no monofilética denominada *Prasinophyceae*, que contiene algas verdes primitivas (Bullerwell y Gray 2004). Recientemente se ha incluido la clase *Pedinophyceae*, sin embargo su posición filogenética aún se debate (Turmel et al, 1999).

La filogenia es importante ya que refleja la historia de la transmisión de la información genética, asimismo contribuye a guiar la interpretación de cómo y bajo qué circunstancias han ido evolucionando los genomas. Actualmente, existen muy pocos genomas nucleares de algas verdes completamente secuenciados: el de la trebuxofícea *Chlorella* sp. NC64A (http://genome.jgi-psf.org/ChlNC64A_1/ChlNC64A_1.home.html), los de las prasinofíceas *Micromonas pusilla* (<http://genome.jgi-psf.org/MicpuC2/MicpuC2.home.html>), *Micromonas* RCC299 (<http://genome.jgi-psf.org/MicpuN2/MicpuN2.home.html>), *Ostreococcus lucimarinus* (http://genome.jgi-psf.org/Ost9901_3/Ost9901_3.home.html) y *Ostreococcus tauri* (<http://genome.jgi-psf.org/Osta4/Osta4.home.html>) y los de las clorofíceas *Chlamydomonas reinhardtii* (<http://genome.jgi-psf.org/Chlre3/Chlre3.home.html>) y *Volvox carteri* (<http://genome.jgi-psf.org/Volca1/Volca1.home.html>); por lo que es difícil llevar a cabo estudios comparativos que permitan conocer la variación de secuencia de los genes y definir con exactitud las relaciones filogenéticas entre las algas verdes. En cambio, la secuenciación de 10 genomas mi-

*

tocondriales pertenecientes a los distintos linajes de algas verdes ha permitido observar que éstos han sufrido cambios radicales en su estructura, composición, organización, contenido de genes y número de copias de genes a lo largo de su evolución. Estas características pueden ser útiles para hacer inferencias acerca de la naturaleza del genoma mitocondrial de su ancestro común (Pombert et al, 2006). El genoma mitocondrial ha sido utilizado ampliamente en estudios de evolución por ser heredado de manera uniparental, por contener una copia única de genes ortólogos y por tener una alta tasa de mutación, utilizada para definir la distancia genética entre organismos cercanamente relacionados y así establecer sus relaciones filogenéticas (Brown et al, 1979 y Barr et al, 2005).

La secuenciación de genomas mitocondriales de los distintos linajes de algas verdes ha revelado que éstos presentan una gran diversidad. Análisis comparativos han permitido contrastar los patrones de organización de los genomas mitocondriales de los distintos linajes de algas verdes. Los factores y los mecanismos responsables de los cambios en contenido, organización y estructura de los genomas mitocondriales que las algas verdes han sufrido a lo largo de su evolución aún no se conocen completamente. ¿Qué fuerzas evolutivas han contribuido a mantener determinados genes en el genoma mitocondrial? ¿Qué posibles implicaciones tiene la transferencia de genes del genoma mitocondrial al nuclear? ¿Qué ha favorecido que ciertos linajes de algas verdes hayan adquirido nuevo material genético? A continuación se discuten algunas características a nivel de organización, estructura, contenido y dinámica de genes que se han observado en los genomas mitocondriales secuenciados de las algas verdes, así como el posible significado que pueden tener a nivel evolutivo. Finalmente, se conjuntan estas observaciones para proponer una nueva aplicación del genoma mitocondrial en la filogenia de las algas clorofíceas.

GENOMAS MITOCONDRIALES

Las mitocondrias son organelos de las células eucariontes cuya función principal es la síntesis de ATP acoplada a la cadena respiratoria, fenómeno conocido como fosforilación oxidativa. La fosforilación oxidativa es una de las rutas bioquímicas más antiguas y conservadas en la mitocondria (Mentel y Martin 2008). Las mitocondrias también participan en la biosíntesis de aminoácidos y de ácidos grasos, en la apoptosis, en la señalización celular (Logan 2007) y en la biogénesis de los centros hierro-azufre.

La teoría más aceptada acerca del origen de la mitocondria es la del endosimbionte, la cual propone que este organelo se originó a partir de un simbiote intracelular bacteriano (Margulis 1975). Análisis filogenéticos de RNA ribosomal (rRNA) indican que el endosimbionte probable-

mente fue una α -proteobacteria (Gray et al, 2001, Katz 2002 y Andersson et al, 2003). La naturaleza del hospedero aún se debate, pero se propone que fue una arqueobacteria (Timmis et al, 2004) o un protoeucarionte (Poole y Penny 2007).

Las mitocondrias son organelos intracelulares semiautónomos que contienen su propio genoma. Los genomas mitocondriales actuales son el resultado de una reducción del genoma del endosimbionte original (Gray et al, 1999). Aunque se ha propuesto que tienen el mismo origen, los genomas mitocondriales han evolucionado de manera distinta en los organismos eucariontes (Fauron et al, 1995 y Barr et al, 2005) y presentan una gran diversidad en tamaño, organización y complejidad génica. Los genomas mitocondriales son muy dinámicos, modifican, eliminan y/o rearreglan su material genético y se ha propuesto que incluso pueden adquirir nuevo material genético (Boer y Gray 1988 y Pont-Kingdon et al, 1998).

Los genomas mitocondriales contienen genes que codifican RNAs ribosomales, RNAs de transferencia (tRNA) (Salinas et al, 2008), proteínas de los distintos complejos enzimáticos de la cadena respiratoria y ocasionalmente algunas proteínas ribosomales (Burger et al, 2003). No obstante, a pesar de que la información contenida en el genoma mitocondrial está conservada entre los eucariontes, el genoma mitocondrial se caracteriza por una gran diversidad en estructura, tamaño, contenido de genes y organización en los distintos organismos eucariontes (Gray et al, 1999 y Burger et al, 2003).

DIVERSIDAD DE LOS GENOMAS MITOCONDRIALES

La mayoría de los genomas mitocondriales presentan una estructura circular, por ejemplo el de humano (Saccone et al, 2006). Existen genomas mitocondriales lineales como es el caso de los apicomplejos como *Plasmodium falciparum* (Conway et al, 2000) o de algunas algas verdes como *Chlamydomonas reinhardtii* (Boer y Gray 1988). Otros genomas mitocondriales están compuestos por más de una molécula como en los siguientes ejemplos. El genoma mitocondrial del hongo *Spizellomyces punctatus* consiste en tres moléculas circulares (Burger et al, 2003). El genoma mitocondrial del alga verde *Polytomella parva* consiste en dos cadenas lineales de 13.5 y 3.5 kbp, respectivamente (Fan y Lee 2002). El genoma mitocondrial del metazoario *Amoebidium parasiticum* está fragmentado en más de 80 moléculas (Bullerwell y Gray 2004). El genoma mitocondrial de los kinetoplástidos *Tripanosoma* consiste en concatenámeros de DNA. Cada concatenámero contiene aproximadamente una docena de maxicírculos (20 a 40 kb) y miles de mini-círculos (0.5 a 2.5 kb). Los maxicírculos codifican proteínas y rRNA y los minicírculos codifican

RNAs guía que participan en la edición de los RNA mensajeros (Morris et al, 2001).

La secuenciación de los diversos genomas mitocondriales ha demostrado que el contenido de genes es independiente del tamaño del genoma mitocondrial (Burger et al, 2003). El genoma mitocondrial del protozooario *Reclinomonas americana* es el que presenta el mayor contenido de genes; tiene un tamaño de 69 kpb, contiene 97 genes y codifica 67 proteínas (Lang et al, 1997). Los genomas mitocondriales secuenciados de los apicomplejos constituyen a la fecha los genomas mitocondriales con el menor contenido de genes. Por ejemplo, el genoma mitocondrial de *P. falciparum* tiene un tamaño menor a 6 kpb y contiene tres genes que codifican tres proteínas, respectivamente (Conway et al, 2000). En cambio, los genomas mitocondriales de las plantas tienen un tamaño de más de 200 kpb, pero en general contienen menos genes que el genoma mitocondrial de *R. americana*. Por ejemplo, el genoma mitocondrial de la planta *Physcomitrella patens* tiene un tamaño de más de 100 kpb, contiene 69 genes y codifica 42 proteínas (Terasawa et al, 2007).

Existen genomas mitocondriales que presentan un patrón de organización similar al de su ancestro bacteriano: en su mayoría son codificantes, prácticamente no contienen intrones; contienen genes que codifican todos los tRNA necesarios y tienen un uso de codones universal (Gray et al, 1999). Algunos ejemplos de este tipo de genomas mitocondriales son los de animales, hongos y plantas (Gray et al, 1999). Sin embargo, hay genomas mitocondriales que presentan un patrón distinto al de su ancestro bacteriano: presentan una notable reducción en el contenido de genes, presentan genes que codifican rRNA fragmentados y dispersos; y tienen un uso de codones no universal. Tal es el caso de los genomas mitocondriales de algunas algas verdes.

GENOMAS MITOCONDRIALES DE ALGAS VERDES

Actualmente se han secuenciado y anotado en el GenBank (NCBI) 10 genomas mitocondriales de algas verdes. Uno de ellos pertenece al linaje de las trebuxofíceas, *Prototheca wickerhamii* (U02970) (Wolff et al, 1994), uno al linaje de las pedinofíceas, *Pedinomonas minor* (AF116775) (Turmel et al, 1999), dos al linaje de las ulvofíceas, *Pseudonocardium akinetum* (AY359242) (Pombert et al, 2004) y *Oltmannsiellopsis viridis* (DQ365900) (Pombert et al, 2006), dos al linaje de las prasinofíceas, *Ostreococcus tauri* (CR954200) (Robbens et al, 2007) y *Nephroselmis olivacea* (AF110138) (Turmel et al, 1999) y cuatro al linaje de las clorofíceas, *Chlamydomonas eugametos* (AF008237) (Denovan-Wright et al, 1998), *Chlamydomonas reinhardtii* (U03843) (Vahrenholz et al, 1993), *Polytomella capuana* (EF645804) (Smith y Lee 2008) y *Scenedesmus obliquus* (X17375) (Nedelcu et al, 2000). En las algas verdes se han

descrito dos tipos de genomas: el ancestral y el reducido. Los genomas de tipo ancestral tienen un tamaño de 45 a 96 kpb; contienen genes que codifican proteínas ribosomales, proteínas de la cadena respiratoria, rRNA y el juego completo de genes que codifican todos los tRNA (Nedelcu et al, 2000) (Tabla 1). Los genes que codifican rRNA están localizados de manera continua en el genoma mitocondrial. Los genomas mitocondriales del alga trebuxofícea *P. wickerhamii* (U02970), de las algas ulvofíceas *P. akinetum* (AY359242) y *O. viridis* (DQ365900), y de las algas prasinofíceas *O. tauri* (CR954200) y *N. olivacea* (AF110138), son de tipo ancestral (Pombert et al, 2006). Los genomas de tipo reducido tienen un tamaño de 13 a 25 kpb; carecen de genes que codifican proteínas ribosomales y solamente contienen algunos de los genes que codifican rRNA, proteínas de la cadena respiratoria y tRNA. Los genes que codifican los rRNA están fragmentados y localizados de manera dispersa en el genoma mitocondrial. Los genomas mitocondriales del alga pedinofícea, *P. minor*, de las algas clorofíceas, *C. eugametos* (AF008237), *C. reinhardtii* (U03843), y *P. capuana* (EF645804), son de tipo reducido (Tabla 1).

El porcentaje del genoma mitocondrial que es codificante va del 41% al 61% en la mayoría de los genomas secuenciados de algas verdes. La excepción la constituye el genoma mitocondrial de *S. obliquus*, cuyo porcentaje de genoma codificante es del 38% (Tabla 2). El genoma mitocondrial del alga clorofícea *S. obliquus* se considera como un intermediario evolutivo entre los genomas de las algas verdes (Nedelcu et al, 2000). El genoma mitocondrial de *S. obliquus* tiene un tamaño menor (aproximadamente 43 kpb) que el del genoma de tipo ancestral de *N. olivacea* (aproximadamente 45 kpb) y mayor que el del genoma de tipo reducido de *P. minor* (aproximadamente 25 kpb) (Tabla 2). La densidad de genes en *S. obliquus* (del 60.6%) es la menor que se ha descrito hasta ahora en los genomas mitocondriales secuenciados de algas verdes. El genoma mitocondrial de *S. obliquus* contiene 42 genes, contra 62 genes que contienen aproximadamente los genomas de tipo ancestral y contra 12 genes que contienen en promedio los genomas reducidos (Tabla 2). Además, los genes que codifican rRNA están fragmentados y localizados de manera dispersa, como en los genomas mitocondriales de tipo reducido (Nedelcu et al, 2000).

INTRONES

Los intrones son elementos integrales de los genomas eucariontes que participan de manera activa en la evolución de genes mediante los fenómenos de procesamiento alternativo e intercambio de exones (Fedorova y Fedorov 2003). Los genomas de organelos celulares contienen dos tipos de intrones: de grupo I y de grupo II. Los intrones de

grupo I codifican endonucleasas, sitio específico que catalizan su propagación a otros genes. Los intrones de grupo II son elementos genéticos móviles autocatalíticos (Haugen et al, 2005).

Existen variaciones en el número, el grupo y la localización de intrones reportados entre los genomas mitocondriales secuenciados de las algas verdes: *O. tauri*, *C. reinhardtii* y *P. capuana* no tienen intrones en sus genomas mitocondriales; *P. akinetum*, *O. viridis*, *P. wickerhamii*, *N. olivacea*, *S. obliquus* y *C. eugametos* contienen intrones de grupo I y *O. viridis*, *S. obliquus* y *P. minor* contienen intrones de grupo II (Tabla 2). Las algas verdes anteriores que contienen intrones de grupo I, presentan uno o más de estos intrones en los genes que codifican rRNA. Las algas *P. akinetum* (Wolff et al, 1994), *O. viridis* (Pombert et al, 2006), *N. olivacea* (Turmel et al, 1999) y *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998) contienen un intrón de grupo I en el gen *cob*. Las algas *P. akinetum* (Wolff et al, 1994), *P. wickerhamii* (Wolff et al, 1994), y *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998) contienen uno o más intrones de grupo I en el gen *cox1*. Las clorofíceas *S. obliquus* (Nedelcu et al, 2000) y *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998) contienen uno o más intrones de grupo I en el gen *nad5*. Las algas *P. akinetum* (Wolff et al, 1994) y *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998) contienen un intrón de grupo I en los genes *atp1* y *nad1*, respectivamente. En cuanto a los intrones de grupo II, se observa que *S. obliquus* (Nedelcu et al, 2000) y *P. minor* (Turmel et al, 1999) contienen un intrón de grupo II en uno o más genes que codifican rRNA. Finalmente, *O. viridis* contiene un intrón de grupo II en el gen *cox1* (Pombert et al, 2006).

La presencia de intrones en los genomas mitocondriales en las distintas algas puede ser útil para describir las relaciones filogenéticas entre los linajes de algas verdes. La presencia de intrones de un mismo grupo en los mismos genes de distintas algas podría sugerir que los intrones hayan sido heredados verticalmente de un ancestro mitocondrial común de las algas verdes. Será interesante determinar si los intrones conservan la secuencia, la estructura y una posición equivalente en los genes de las distintas algas verdes, ya que esto podría contribuir a identificar eventos de transferencia horizontal (Gray et al, 1998).

CONTENIDO DE GENES

Los genomas mitocondriales secuenciados de algas verdes revelan que el contenido de genes varía en los distintos linajes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=33090&opt=organelle>). De los genes contenidos en el genoma mitocondrial se les ha dado atención principalmente a aquellos que codifican proteínas que participan en la fosforilación oxidativa. En esta ruta metabólica interaccionan proteínas

codificadas por genes mitocondriales y nucleares (Saccone et al, 2006).

Los genomas mitocondriales secuenciados de las algas verdes presentan diferencias en cuanto al contenido de genes que codifican distintas subunidades de los complejos I, IV y V de la cadena respiratoria (Tabla 1). Los genomas mitocondriales de las algas prasinofíceas *O. tauri* (Robbens et al, 2007) y *N. olivacea* (Turmel et al, 1999) contienen todo el conjunto de genes clásicos mitocondriales que codifican para subunidades de los complejos I, IV y V. En cuanto a los genes que codifican componentes del complejo I se observan variaciones. El alga trebuxofícea *P. wickerhamii* (Wolff et al, 1994) y las algas ulvofíceas *O. viridis* y *P. akinetum* (Pombert et al, 2006) carecen del gen *nad10* del complejo I. El alga ulvofícea *P. akinetum* (Pombert et al, 2006) y el alga pedinofícea *P. minor* (Turmel et al, 1999) carecen, además del gen *nad10*, del gen *nad9*. Los genomas mitocondriales de las clorofíceas *S. obliquus* (Nedelcu et al, 2000), *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998), *C. reinhardtii* (Vahrenholz et al, 1993) y *P. capuana* (Smith y Lee 2008) carecen de los genes *nad7*, *nad9* y *nad10*. Además, las algas *C. eugametos* (AF008237) (Denovan-Wright et al, 1998), *C. reinhardtii* (U03843) (Vahrenholz et al, 1993) y *P. capuana* (EF645804) (Smith y Lee 2008) que son muy cercanas filogenéticamente, carecen de los genes *nad3*, *nad4L*, *nad7*, *nad9* y *nad10*.

En cuanto a los genes que codifican componentes del complejo IV se observa que los genomas mitocondriales del alga pedinofícea *P. minor* (Turmel et al, 1999) y de las algas clorofíceas *S. obliquus* (Funes et al, 2002), *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998), *C. reinhardtii* (Pérez-Martínez et al, 2000 y Pérez-Martínez et al, 2001) y *P. capuana* (Smith y Lee 2008) carecen de los genes *cox2* y *cox3* (Tabla 1). La ausencia del gen *cox2* en el genoma mitocondrial constituye un caso único entre las algas verdes y entre los parásitos apicomplejos (Pérez-Martínez et al, 2001 y Funes et al, 2002). Como se discutirá más adelante, en el caso de *S. obliquus* el gen *cox2* también está fragmentado; pero *cox2a* permanece en el genoma mitocondrial (AAF72052), mientras que *cox2b* ha migrado al genoma nuclear (AAO27881) (Funes et al, 2002).

Respecto a los genes que codifican componentes del complejo V, se observa que los genomas mitocondriales de las algas prasinofíceas, ulvofíceas y trebuxofíceas contienen los genes *atp1*, *atp4*, *atp6*, *atp8* y *atp9* que codifican las distintas subunidades del estator de la ATP sintasa mitocondrial (Tabla 1). Los genomas mitocondriales del alga pedinofícea *P. minor* (Turmel et al, 1999) y de la clorofícea *S. obliquus* (Nedelcu et al, 2000) contienen el gen *atp6*. Además, el genoma mitocondrial de *P. minor* (Turmel et al, 1999) contiene el gen *atp8* y el de *S. obliquus* contiene el gen *atp9*. Los genomas mitocondriales de las algas clo-

rofitáceas *C. eugametos* (AF008237) (Denovan-Wright et al, 1998), *C. reinhardtii* (U03843) (Vahrenholz et al, 1993) y *P. capuana* (EF645804) (Smith y Lee 2008) constituyen un caso notable ya que ninguno de ellos contiene genes que codifican subunidades del estator de la ATP sintasa, como se discutirá más adelante (Tabla 1).

Las algas prasinofíceas *N. olivacea* (Turmel et al, 1999), *O. tauri* (Robbens et al, 2007), el alga trebuxofícea *P. wickerhamii* (Wolff et al, 1994) y las ulvofíceas *O. viridis* (Pombert et al, 2006) y *P. akinetum* (Pombert et al, 2004) que tienen un genoma mitocondrial de tipo ancestral, es decir semejante al de *R. americana*, contienen el conjunto completo o casi completo de genes que codifican todos los tRNA necesarios para sintetizar las proteínas que codifican (Tabla 1). En algunos genomas mitocondriales de algas verdes se ha observado que existen variaciones en el código genético (Nedelcu et al, 2000). Los genomas mitocondriales de tipo ancestral tienen una preferencia por la terminación con el nucleótido A o T en la tercera posición del codón. El alga pedinofícea *P. minor* y las algas clorofíceas *C. reinhardtii* y *C. eugametos* tienen un genoma mitocondrial de tipo reducido y carecen de la mayoría de los genes que codifican todos los tRNA necesarios para la síntesis de proteínas (Tabla 1). Éstas también tienen una preferencia por la terminación con el nucleótido A o T en la tercera posición del codón. Sin embargo, *P. minor* utiliza el codón de terminación UGA para codificar un triptófano (Turmel et al, 1999). El alga clorofícea *S. obliquus* utiliza un código genético diferente donde el codón de terminación UAG codifica para leucina y el codón UCA para la terminación. *S. obliquus* no tiene una preferencia por la terminación con el nucleótido A o T en la tercera posición del codón (Nedelcu et al, 2000).

El uso de un código genético alternativo es una característica distintiva de los genomas mitocondriales. La plasticidad manifestada en la tercera posición del codón podría verse reflejada en el uso de una menor cantidad de tRNA para la síntesis de proteínas. Así, la plasticidad manifestada en la tercera posición del codón junto con la ausencia de algunos genes que codifican tRNA pueden ser factores que contribuyen a la variación de los códigos genéticos mitocondriales (Knight et al, 2001). Además, en los eucariontes en general, la importación de tRNA del citoplasma a la mitocondria es esencial para los procesos biosintéticos de la mitocondria y en consecuencia para la viabilidad celular (Salinas et al, 2008).

Una ventaja de la secuenciación completa de los genomas mitocondriales es que permite conocer el orden en que se encuentran los genes. En este trabajo hemos realizado un análisis *in silico* de los genomas mitocondriales secuenciados de las algas verdes y tomando en cuenta solamente aquellos que codifican proteínas de la cadena respiratoria; se observa que hay arreglos de genes contiguos que están presentes

en diferentes linajes (Tabla 3). Un ejemplo es el arreglo de genes [*cox2-cox3*] que se encuentra en el genoma mitocondrial de las prasinofíceas *N. olivacea* (GeneID: 4178032 y 4178033) y *O. tauri* (GeneID: 4238905 y 4238906), en la ulvofícea *O. viridis* (GeneID: 4200888 y 4200889) y en la trebuxofícea *P. wickerhamii* (GeneID: 802128 y 802127). Sin embargo, en *P. wickerhamii* los genes están orientados en dirección inversa [*cox3-cox2*], y se localizan en la cadena no codificante del genoma. A continuación se mencionan otros ejemplos. El arreglo [*atp1-nad1*] se encuentra en la ulvofícea *P. akinetum* (GeneID: 2847073 y 2847036) y en la trebuxofícea *P. wickerhamii* (GeneID: 802120 y 802115). El arreglo [*nad4-nad5*], en donde ambos genes se localizan en la cadena no codificante del genoma, se encuentra en la trebuxofícea *P. wickerhamii* (GeneID: 802106 y 802112), en las prasinofíceas *N. olivacea* (GeneID: 4178018 y 4178017) y *O. tauri* (GeneID: 4238861 y 4238864) y en la clorofícea *C. reinhardtii* (GeneID: 801494 y 801492). En *N. olivacea* los genes están orientados en dirección inversa y se localizan en la cadena codificante del genoma. El arreglo [*nad4-nad2*] se encuentra en las prasinofíceas *N. olivacea* (GeneID: 4178018 y 4178019) y *O. tauri* (GeneID: 4238861 y 4238925), en las clorofíceas *Chlamydomonas elongatum* (GeneID: 800378 y 800383) y *P. capuana* (GeneID: 5952269 y 5952285) y en la pedinofícea *P. minor* (GeneID: 800406 y 800409). En *O. tauri* los genes están orientados en dirección inversa y se localizan en la cadena no codificante del genoma. El arreglo [*cox1-nad4*] se encuentra en la trebuxofícea *P. wickerhamii* (GeneID: 802105 y 802106), en la pedinofícea *P. minor* (GeneID: 800402 y 800406) y en las clorofíceas *S. obliquus* (GeneID: 802057 y 802067) y *P. capuana* (GeneID: 5952274 y 5952269). En la trebuxofícea *P. wickerhamii* ambos genes se localizan en la cadena codificante del genoma. El arreglo [*nad5-nad4L*] se encuentra en la ulvofícea *O. viridis* (GeneID: 4200929 y 4200930) y en la clorofícea *S. obliquus* (GeneID: 802065 y 802068). Finalmente, el arreglo [*cob-cox1*] se encuentra en la prasinofícea *O. tauri* y en las clorofíceas *C. eugametos* (GeneID: 800379 y 800385) y *P. capuana* (GeneID: 5952284 y 5952274). En *O. tauri*, los genes *cox1* y *cob* están duplicados (GeneID: 4238907, 4238908 y 4238903, 4238904). En la cadena codificante está el arreglo [*cox1-cob*] y en la cadena no codificante se encuentra el duplicado de los genes en dirección inversa. En la clorofícea *P. capuana*, el gen *cob* se localiza en la cadena no codificante del genoma (Tabla 3).

Algunos arreglos de genes parecen estar presentes solamente en un linaje. Por ejemplo, los siguientes arreglos de genes que se encuentran solamente en las prasinofíceas *N. olivacea* y *O. tauri*: los genes [*atp6-nad6*] (*N. olivacea* GeneID: 4178029 y 4178030, y *O. tauri* GeneID: 4238898 y 4238865), donde el gen *atp6* se localiza en la cadena no codificante del genoma, y los genes [*nad5-nad4-nad2*]. En *O. tauri* los genes

Tabla 1. Comparación del contenido de genes en los genomas mitocondriales secuenciados de algas verdes.

Gen mitocondrial	No ^a	Ot ^b	Pw ^a	Ov ^b	Pa ^b	Pm ^a	So ^a	Ce ^a	Cr ^a	Pc ^b
Proteínas del Complejo I										
<i>nad1</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>nad2</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>nad3</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>nad4</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>nad4L</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>nad5</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>nad6</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>nad7</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>nad9</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>nad10</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteínas del Complejo III										
<i>cob</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Proteínas del Complejo IV										
<i>cox1</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>cox2</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>cox3</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Proteínas del Complejo V										
<i>atp1</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>atp4</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>atp6</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>atp8</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>atp9</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Transcriptasa reversa										
<i>rtl</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Proteínas ribosomales de la subunidad grande										
<i>rpl5</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>rpl6</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>rpl14</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>rpl16</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Proteínas ribosomales de la subunidad pequeña										
<i>rps2</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps3</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps4</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>rps7</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>rps8</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>rps10</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>rps11</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps12</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps13</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps14</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>rps19</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
RNAs ribosomales										
<i>rnl</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>rns</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>rrn</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
RNAs de transferencia	26	26	26	24	25	8	27	3	3	1

No, *Nephroselmis olivacea* (NC_008239); Ot, *Ostreococcus tauri* (NC_008290); Pw, *Prototheca wickerhamii* (NC_001613); Pa, *Pseudoclonium akinetum* (NC_005926); Ov, *Oltmannsiellopsis viridis* (NC_008256); Pm, *Pedinomonas minor* (NC_000892); So, *Scenedesmus obliquus* (NC_002254); Ce, *Chlamydomonas eugametos* (NC_001872); Cr, *Chlamydomonas reinhardtii* (NC_001638); Pc, *Polytomella capuana* (NC_010357).

^a Datos obtenidos de Nedelcu 2000

^b Datos obtenidos mediante análisis de los genomas mitocondriales publicados en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=33090&opt=organelle>

* genes duplicados

**genes fragmentados

[*nad5-nad4-nad2*] están orientados en dirección inversa y se localizan en la cadena codificante del genoma. La presencia del arreglo [*nad5-nad4-nad2*] es característica de los genomas que presentan un patrón de organización similar al de su ancestro bacteriano (Lang et al, 1997). Esto coincide con el hecho de que las algas del linaje de las prasinofíceas tienen un genoma mitocondrial de tipo ancestral. Además, tomando en cuenta que los genomas mitocondriales de *N. olivacea* y *O. tauri* tienen una estructura circular, se observa que ambas conservan el siguiente arreglo: [*atp6-nad6-cox2-cox3-nad5-nad4-nad2*] (con la inversión respectiva de los genes *nad5*, 4 y 2 en *O. tauri*) (Tabla 3).

La preservación del orden preciso de los genes en los genomas mitocondriales (sintenia), así como la presencia o la ausencia de genes, son importantes a nivel evolutivo. El orden de los genes en un genoma en general está preserva-

do en los organismos que son filogenéticamente cercanos. Además, la conservación del orden de genes puede dar información acerca de eventos de recombinación. En el caso de las algas verdes, es posible que algunos arreglos de genes sean características exclusivas de un linaje particular y por lo tanto sean útiles para resolver controversias en cuanto a su clasificación entre los distintos linajes de algas verdes. Normalmente se considera que dos o más linajes están relacionados si éstos presentan características morfológicas compartidas, ya que se piensa que estas características provienen de su ancestro común (Tamames 2001).

ESTRUCTURA

La mayoría de las algas clorofíceas presentan genomas mitocondriales con estructura circular, como es el caso de

Tabla 2. Características de los genomas mitocondriales secuenciados de algas verdes.

Alga	Topología	Tamaño (pb)	Genoma codificante (%)	Genes	Proteínas	RNAs estructurales	% G y C	Grupo I	Intrones Gen	Grupo II	Gen
<i>Pa</i> ^a	circular	95880	49%	94	72	27	39%	7	<i>ml</i> (1) <i>atp1</i> (1) <i>cox1</i> (4) <i>cob</i> (1)	0	
<i>Ov</i> ^a	circular	56761	53%	63	36	27	33%	2	<i>ml</i> (1) <i>cob</i> (1)	1	<i>cox1</i> (1)
<i>Pw</i> ^b	circular	55328	52%	63	36	29	25%	5	<i>lrm</i> (2)* <i>cox1</i> (3)	0	
<i>No</i> ^b	circular	45223	62%	70	40	30	32%	4	<i>ml</i> (3) <i>cob</i> (1)	0	
<i>Ot</i> ^a	circular	44237	68%	78	43	35	38%	0		0	
<i>So</i> ^b	circular	42781	38%	53	20	33	36%	2	<i>ml4</i> (1) <i>nad5</i> (1)	2	<i>ml4</i> (1) <i>rns</i> (1)
<i>Pm</i> ^a (1)	circular	25137	41%	23	11	12	22%	0		1	<i>rnl_a</i>
<i>Ce</i> ^b	circular	22897	54%	20	14	13	34%	9	<i>ml_b</i> (1) <i>ml_e</i> (1) <i>ml_f</i> (2) <i>cob</i> (1) <i>cox1</i> (1) <i>nad1</i> (1) <i>nad5</i> (2)	0	
<i>Cr</i> ^b	lineal	15758	58%	25	8	17	45%	0			0
<i>Pc</i> ^a	lineal	12998	61%	21	7	13	57%	0			0

Pa, *Pseudoclonium akinetum* (NC_005926); *Ov*, *Oltmannsiellopsis viridis* (NC_008256); *Pw*, *Prototheca wickerhamii* (NC_001613); *No*, *Nephroselmis olivacea* (NC_008239); *Ot*, *Ostreococcus tauri* (NC_008290); *So*, *Scenedesmus obliquus* (NC_002254); *Pm*, *Pedinomonas minor* (NC_000892); *Ce*, *Chlamydomonas eugametos* (NC_001872); *Cr*, *Chlamydomonas reinhardtii* (NC_001638); *Pc*, *Polytomella capuana* (NC_010357).

^a Datos obtenidos mediante análisis de los genomas mitocondriales publicados en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=33090&opt=organelle>

^b Datos obtenidos de Nedelcu 2000

*mismo que gen *ml*

P. wickerhamii (Wolff et al, 1994), *P. akinetum* (Pombert et al, 2004), *O. viridis* (Pombert et al, 2006), *O. tauri* (Robbens et al, 2007), *N. olivacea* (Turmel et al, 1999), *P. minor* (Turmel et al, 1999), *S. obliquus* (Nedelcu et al, 2000) y *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998). También existen algas verdes que presentan genomas mitocondriales lineales; hasta ahora solamente se han encontrado en el linaje de las clorofíceas. El genoma mitocondrial de *C. reinhardtii* es lineal, tiene un tamaño de 15.8 kpb y tiene regiones teloméricas (Fan y Lee 2002). El 58% del genoma mitocondrial codifica proteínas y RNAs (Tabla 2). El genoma restante representa DNA no codificante que consiste en regiones intergénicas y en secuencias teloméricas. Las secuencias teloméricas son extensiones de cadena sencilla con secuencias repetidas invertidas de 580 pb aproximadamente (Smith y Lee 2008).

Polytomella es un grupo de algas que pertenece al clado *Reinhardtii* y que ha perdido la pared celular y el aparato fotosintético (van Lis 2005). El genoma mitocondrial de *P. parva* aún no ha sido completamente secuenciado, pero se ha observado que consiste en dos fragmentos lineales de 13.5 kpb y 3.5 kpb, respectivamente. El fragmento de 3.5 kpb codifica solamente un gen, *nad6*. Las regiones teloméricas de ambos fragmentos contienen secuencias repetidas invertidas de aproximadamente 1.3 kpb (Fan y Lee 2002). El genoma mitocondrial de *P. capuana* consiste en una molécula lineal de aproximadamente 13 kpb con secuencias teloméricas de 530 pb (Smith y Lee 2008). El 61% del genoma mitocondrial codifica proteínas y RNAs (Tabla 2). El genoma restante representa DNA no codificante que con-

siste en regiones intergénicas y en secuencias teloméricas. Las regiones codificantes están organizadas en dos grupos de distinto tamaño con polaridades transcripcionales opuestas. Las secuencias teloméricas de *P. capuana* consisten en secuencias repetidas invertidas que abarcan DNA codificante y no codificante y existen en una conformación cerrada o abierta (Smith y Lee 2008).

Una característica particular del genoma de *P. capuana* es que presenta el mayor contenido de los nucleótidos G y C de todos los genomas mitocondriales completamente secuenciados de las algas verdes. El porcentaje de G y C del genoma mitocondrial en *P. capuana* es de 57% mientras que en *C. reinhardtii* es de 45% y en las demás algas es de 30% (Tabla 2). Se ha propuesto que las secuencias cortas repetidas ricas en G y C son regiones que pueden actuar como blancos de recombinación y así ocasionar rearrreglos genómicos (Smith y Lee 2008). Smith y Lee, de manera teórica, utilizaron una porción de una secuencia corta invertida repetida en la región intergénica de los genes *nad6* y *cob* de *P. capuana* (GeneID: 5952281 y 5952284) y secuencias homólogas en las regiones teloméricas para generar mediante recombinación ilegítima, productos similares a los dos fragmentos lineales de 13.5 kpb y 3.5 kpb del genoma mitocondrial de *P. parva* (Smith y Lee 2008). Así, la recombinación constituye un factor que puede influenciar tanto la estructura de los genomas mitocondriales como el orden de los genes en el genoma.

La presencia de secuencias cortas repetidas dispersas probablemente tiene un papel importante en los rearrreglos de los genomas mitocondriales de las algas verdes (Nedelcu

Tabla 3. Orden de genes en los genomas mitocondriales secuenciados de algas verdes.

Alga	Orden de genes
Pa	<i>cox1</i> -(<i>nad6</i>)- <i>nad3</i> - <i>atp8</i> - <i>nad2</i> -(<i>cox3</i>)-(atp4)-(atp6)-(nad7)-(cob)-(nad4)-(nad4L)-(atp9)-atp1-nad1-nad5-cox2
Ov	<i>nad6</i> - <i>nad4</i> -(cob)-(atp4)- <i>nad9</i> -(nad3)-(nad7)-(atp9)-(atp1)- <i>nad2</i> - <i>nad5</i> - <i>nad4L</i> -atp6-atp8-cox1-cox2-cox3
Pw	(<i>cox1</i>)-(nad4)-(nad5)-(nad7)-(cox3)-(cox2)-(atp8)-(nad9)-(cob)-(atp6)-(nad3)- <i>nad6</i> - <i>nad4L</i> -atp1-nad1-atp9-nad2
No	<i>nad5</i> - <i>nad4</i> - <i>nad2</i> -atp9-(cox1)-(nad9)-(nad10)- <i>nad4L</i> -atp8-(nad1)-(cob)-(nad3)-(nad7)-(atp1)-(atp6)- <i>nad6</i> -cox2-cox3
Ot	(atp9)- <i>nad7</i> - <i>nad3</i> -(atp1)-(nad9)- <i>nad4L</i> _1-atp8_1-cox1_1-cob-(nad1)-(atp6)- <i>nad6</i> -cox2-cox3-(nad2)-(nad4)-(nad5)-(cob)-(cox1_2)-(atp8_2)-(nad4L_2)
So	<i>cox2</i> - <i>nad5</i> - <i>nad4L</i> - <i>nad3</i> -cox3-nad1-(atp6)- <i>nad2</i> -cox1-nad4-nad6-cob-atp9
Pm	atp8-nad5-atp6-nad4L-cox1-nad4-nad2-nad1-nad6-nad3-cob
Ce	<i>nad6</i> - <i>nad4</i> - <i>nad2</i> -cob-cox1-nad1-nad5
Cr	(cob)-(nad4)-(nad5)-cox1-nad2-nad6-nad1
Pc	(nad6)-(cob)-cox1-nad4-nad2-nad5-nad1

Pa, *Pseudoclonium akinetum* (NC_005926); Ov, *Oltmannsiellopsis viridis* (NC_008256); Pw, *Prototheca wickerhamii* (NC_001613); No, *Nephroselmis olivacea* (NC_008239); Ot, *Ostreococcus tauri* (NC_008290); So, *Scenedesmus obliquus* (NC_002254); Pm, *Pedinomonas minor* (NC_000892); Ce, *Chlamydomonas eugametos* (NC_001872); Cr, *Chlamydomonas reinhardtii* (NC_001638); Pc, *Polytomella capuana* (NC_010357).

() cadena complementaria

Datos obtenidos mediante análisis de los genomas mitocondriales publicados en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=33090&opt=organelle>

Los arreglos *atp1-nad*, *nad5-nad4L*, *cox2-cox3*, *nad4-nad5*, *atp6-nad6* y *cox1-nad4* se indican sombreados con gris, los arreglos *nad4-nad2*, *cob-cox1* y *nad5-nad4-nad2* se indican subrayados y el arreglo *atp6-nad6-cox2-cox3-nad5-nad4-nad2* se indica con un rectángulo.

y Lee 1998). La recombinación intramolecular que se lleva a cabo utilizando secuencias repetidas directas o invertidas es común en las plantas y genera formas isoméricas del cromosoma principal y moléculas subgenómicas de DNA circulares (Fan y Lee 2002). Asimismo, se ha propuesto que las secuencias repetidas pueden representar cicatrices de eventos de inserción o delección (Nedelcu y Lee 1998). El número, la localización y la orientación de las secuencias repetidas contribuyen a determinar la organización, la complejidad y la función del genoma mitocondrial (Fan y Lee 2002). La presencia de secuencias repetidas se ha descrito en todos los miembros del linaje de las clorofíceas, aunque su abundancia es variable. Las secuencias cortas repetidas de las algas verdes con un genoma mitocondrial de tipo ancestral son ricas en los nucleótidos A y T y tienen un tamaño de 6 a 17 pb; y aquellas con un genoma mitocondrial de tipo reducido son ricas en G y C y tienen un tamaño de 9 a 14 pb (Nedelcu y Lee 1998). Se ha propuesto que las secuencias cortas repetidas ricas en G y C son regiones que pueden actuar como blancos para la recombinación y así ocasionar rearrreglos genómicos (Smith y Lee 1998). Se ha sugerido que a las estructuras cruciformes que forman las regiones ricas en G y C pueden ser reconocidas por enzimas involucradas en la resolución de los intermediarios de recombinación (Dieckman y Gandy 1987). Así, mediante procesos de recombinación intramolecular mediados por secuencias cortas repetidas, se ha propuesto que las algas clorofíceas han eliminado muchas regiones codificantes de sus genomas mitocondriales y han localizado de manera dispersa los genes que codifican rRNA.

El alga prasinofícea *O. tauri* es el organismo eucarionte unicelular más pequeño descrito a la fecha con un tamaño de 1 µm de diámetro. El genoma mitocondrial de *O. tauri* tiene una característica única respecto a los demás genomas mitocondriales de las algas verdes: la presencia de un segmento duplicado de aproximadamente 20 kpb. El segmento duplicado contiene un marco abierto de lectura denominado *orf129*, que no presenta homólogos en análisis hechos por BLAST, cinco genes que codifican proteínas (*cob*, *cox1*, *atp4*, *atp8* y *nad4L*) y cinco genes que codifican RNAs. Las regiones duplicadas son 100% idénticas en secuencia y abarcan un 44% del genoma mitocondrial. El genoma mitocondrial de *O. tauri* presenta la mayor densidad de genes que se ha descrito hasta ahora en los genomas mitocondriales de algas verdes (93%) (Robbens et al, 2007) (Tabla 2).

El evento de duplicación en *O. tauri* es importante ya que la duplicación de una región del genoma es un mecanismo evolutivo que contribuye a incrementar la complejidad de los genomas durante el curso de su evolución. La duplicación de genes, de regiones de genomas o de genomas completos es un mecanismo molecular por el cual se pueden formar nuevos genes (Babushok et al, 2007). Se ha sugerido

que la duplicación de grupos de genes contiguos probablemente es el resultado de eventos desiguales de recombinación homóloga. Se estima que la duplicación de segmentos en los genomas eucariontes ocurre con una frecuencia muy baja de 0.01 por gen por millón de años (Schmidt y Davies 2007). Los efectos de eventos de duplicación incluyen la regulación de genes, ejercer como un amortiguador de mutaciones donde la copia no mutada puede complementar o sustituir a la mutada, o la pérdida total o parcial mediante eliminación o degeneración de alguna de las copias (Babushek et al, 2007). Ambos genes pueden sufrir mutaciones que modifiquen completamente sus funciones o que les permitan adquirir funciones independientes. Asimismo, las regiones reguladoras de ambas copias pueden divergir de tal manera que permitan la expresión espacial y temporal diferente de una o de ambas copias de genes (Sugino e Innan 2006 y Louis 2007).

TRANSFERENCIA DE GENES

Transferencia horizontal

Existe un par de genomas mitocondriales de algas verdes que sugieren eventos recientes de adquisición de genes por transferencia horizontal. La transferencia horizontal se puede detectar mediante el descubrimiento de genealogías genéticas discordantes, mediante el uso de patrones inusuales de la presencia o ausencia de genes en los genomas o mediante patrones aberrantes en la preferencia en el uso de codones (Katz 2002).

El producto del gen *rtl* es una proteína que potencialmente es semejante a una transcriptasa reversa, sin embargo su función y su origen evolutivo aún son inciertos. El gen *rtl* está presente únicamente en los genomas mitocondriales de las algas clorofíceas *C. reinhardtii* (Lang et al, 1997) y *C. smithii* (Kroymann y Zetsche 1998). Se ha sugerido que el gen *rtl* ha sido adquirido recientemente. Dicho gen se distingue por la presencia de codones que no son utilizados por otros genes que codifican proteínas en *C. reinhardtii* y por un bajo número de codones que terminan en T (Boer y Gray 1988). Los análisis que hemos realizado por BLAST indican que la proteína codificada por el gen *rtl* de *C. reinhardtii* (NP_042571) comparte un 72% de identidad con la transcriptasa reversa mitocondrial de *Chlamydomonas incerta* (ABC98218) y un 22% de identidad con la transcriptasa reversa del cloroplasto de *S. obliquus* (YP_636002). La transcriptasa reversa de *C. incerta* y *S. obliquus* comparten un 54% de identidad con respecto al sitio activo de la transcriptasa reversa de *C. reinhardtii*. El gen *rtl* no está presente en el genoma mitocondrial secuenciado de otras algas del género *Chlamydomonas*: *C. elongatum* ni *C. eugametos*. Se

cree que este gen fue adquirido solamente por las algas clorofíceas que pertenecen al mismo grupo que *C. reinhardtii* y *C. smithii* y que este grupo se generó después de la separación del linaje al que pertenecen *C. elongatum* y *C. eugametos* (Kroymann y Zetsche 1998).

Existe otro gen en *O. viridis*, que codifica el marco abierto de lectura 606 (YP_684407), que posiblemente codifica una transcriptasa reversa. Los análisis hechos por BLAST que hemos realizado indican que la proteína codificada por este gen comparte un 58% de identidad con la proteína mitocondrial codificada por el marco abierto de lectura 762 de la criptofita *Rhodomonas salina* (NP_066494) (Pombert et al, 2006), un 38% con una proteína codificada por un marco abierto de lectura localizado en un intrón en el gen *cox1* de la planta *Marchantia polymorpha* (YP_717185), un 36% de identidad con una transcriptasa reversa mitocondrial de *V. carterii* (ACD85984) y con una transcriptasa reversa mitocondrial del alga ectocarpal *Pylaiella littoralis* (NP_150406).

Transferencia de genes al núcleo

El dinamismo del genoma mitocondrial también afecta directamente al genoma nuclear. Distintos análisis de los genomas eucariontes indican que éstos se han originado mediante la combinación de transferencia vertical y horizontal de genes a partir de múltiples donadores (Hartman y Fedorov 2002, Andersson et al, 2003). Existen varias teorías para explicar el origen de los eucariontes y la adquisición de la mitocondria (Katz 2002). Todas se basan en procesos de endosimbiosis entre distintos organismos, donde el simbionte es una alfa-proteobacteria. Así, el organelo adquirido a través de un proceso endosimbiótico constituyó una fuente de material genético potencialmente transferible. La subsiguiente evolución de los genomas mitocondriales y nucleares resultó en una reducción gradual del genoma mitocondrial respecto al genoma del ancestro endosimbionte (Katz 2002). Como resultado de esta transferencia masiva de genes hubo genes del endosimbionte que no eran esenciales o que tenían una función redundante en el hospedero y fueron eliminados. Por otro lado, muchos genes fueron transferidos al genoma nuclear (Adams y Palmer 2003). La transferencia continua de DNA de la mitocondria al núcleo sugiere que todas las secuencias codificantes serán desplazadas eventualmente de la mitocondria. Sin embargo, la transferencia de genes no siempre es exitosa. En varias ocasiones los genes no se establecen de manera efectiva y funcional en el núcleo (Funes et al, 2002). En algunos organismos como los animales la transferencia de genes ha cesado, sin embargo en otros organismos como las plantas la transferencia de genes continúa (Timmis et al, 2004).

El proteoma actual de la mitocondria es un mosaico de proteínas. La mayoría de los componentes mitocondriales están codificados en el genoma nuclear; se calcula que aproximadamente más del 97% de las proteínas que utiliza la mitocondria son sintetizadas en el citoplasma e importadas post transcripcionalmente a la mitocondria (González-Halphen et al, 2003). Por tanto, muchas de las proteínas son retenidas en los organelos, pero no los genes que las codifican. Hay cinco genes de la cadena respiratoria que están presentes universalmente en el genoma mitocondrial, excepto cuando son funcionalmente innecesarios (como es el caso de la ausencia de los genes *nad* en los apicomplejos y en las levaduras que carecen del complejo I): *cob*, *nad1*, *nad4*, *nad5* y *cox1*. La característica principal de las proteínas codificadas por estos genes es que son sumamente hidrofóbicas y contienen varios cruces transmembranales (de 8 a 16) (Adams y Palmer 2003).

Los genomas mitocondriales de tipo reducido de las algas clorofíceas presentan un tamaño menor respecto a las demás algas verdes, así como un contenido reducido de genes. Un ejemplo de esto lo constituyen *C. eugametos* (Denovan-Wright et al, 1998), *C. elongatum* (Kroymann y Zetsche 1998), *P. parva* (Fan y Lee 2002), *P. capuana* (Smith y Lee 2008), *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.* (Pérez-Martínez et al, 2000, Pérez-Martínez et al, 2001 y Funes 2002) que carecen de los genes *nad3*, *nad4L*, *cox2*, *cox3*, *atp6* y *atp8*. En *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.* se ha demostrado que los genes *cox2* y *cox3* están codificados en el genoma nuclear (Pérez-Martínez et al, 2000 y Pérez-Martínez et al, 2001). Además, en *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.* el gen *cox2* presenta otra particularidad, éste se encuentra fragmentado en dos genes: *cox2a* (AAK30367 y AAK32115) y *cox2b* (AAK32117 y AAK32116) (Pérez-Martínez et al, 2001). Recientemente, la secuenciación y publicación en línea del genoma nuclear de otra alga clorofícea, *V. carteri* (<http://genome.jgi-psf.org/Volca1/Volca1.home.html>) nos ha permitido identificar que en esta alga el gen *cox2* también se encuentra fragmentado en los genes *cox2a* (estExt_Genewise1.C_170083) y *cox2b* (estExt_Genewise1Plus.C_100302) localizados en el genoma nuclear. También, en el alga clorofícea *S. obliquus* el gen *cox2* está fragmentado, pero el gen *cox2a* (NP_057974) se localiza en el genoma mitocondrial, mientras que el gen *cox2b* (AAO27881) se localiza en el genoma nuclear (Nedelcu et al, 2000 y Funes et al, 2002).

En otro tipo de algas que pertenecen al phylum *Phaeophyceae*, las algas cafés *P. littoralis* (NP_150411), *Laminaria digitata* (NP_659277), *Desmarestia viridis* (YP_448665) y *Fucus vesiculosus* (YP_448626), hemos observado mediante análisis *in silico* que el gen *cox2* mitocondrial contiene una inserción. Ésta se localiza en la misma posición en relación con la fragmentación del gen *cox2* ortodoxo en los genes *cox2a* y *cox2b*. Estudios futuros contribuirán a esclarecer si

la historia evolutiva de la inserción en el gen *cox2* mitocondrial de las algas cafés está relacionada con la fragmentación y relocalización del gen *cox2* mitocondrial de las algas verdes. Sorprendentemente, el gen *cox2* también se encuentra fragmentado en los apicomplejos. En nuestro grupo de trabajo se ha sugerido que los genes fragmentados *cox2a* y *cox2b* fueron adquiridos por transferencia horizontal a partir del genoma nuclear de las algas verdes, mediante una endosimbiosis secundaria entre los apicomplejos y las algas clorofíceas (Funes et al, 2002). Alternativamente, otros autores han propuesto que la fragmentación de los genes es un proceso que ocurrió de manera independiente en las algas verdes y en los apicomplejos (Waller y Keeling 2006).

El gen *cox2a* codifica un polipéptido que contiene dos cruces transmembranales y corresponde a la porción amino terminal de la proteína COXII ortodoxa y el gen *cox2b* codifica un polipéptido que corresponde a la porción carboxilo terminal de COXII. El modelo que se ha propuesto es que los polipéptidos interactúan entre sí para formar la proteína COXII funcional. Las proteínas codificadas por los genes *cox2a* y *cox2b* tienen características fisicoquímicas, como una menor hidrofobicidad, que les permite ser importadas a la mitocondria (Pérez-Martínez et al, 2001). Las modificaciones que han sufrido los genes que fueron transferidos al genoma nuclear y que les permiten ser completamente funcionales contribuyen a entender los procesos evolutivos involucrados en la transferencia de genes (Pérez-Martínez et al, 2000 y Funes et al, 2002).

Cuando un gen mitocondrial es transferido al genoma nuclear, experimenta cambios debido a las diferencias que existen en las maquinarias transcripcionales y traduccionales de la mitocondria y del núcleo y el citoplasma. Los cambios sufridos por el gen mitocondrial transferido conllevan a su correcta activación en el núcleo, e incluyen la adquisición de un promotor, una señal de poliadenilación y una secuencia que codifica para una señal de localización mitocondrial (Adams y Palmer 2003). Sin embargo, recientemente se ha sugerido en plantas que algunos genes mitocondriales transferidos al genoma nuclear, probablemente ya contienen la señal de localización mitocondrial antes de ser transferidos al genoma nuclear (Ueda et al, 2008).

La implacable transferencia de genes del genoma mitocondrial al nuclear contribuye a incrementar la complejidad del genoma nuclear (Adams y Palmer 2003). Otros genes que se han transferido del genoma mitocondrial al genoma nuclear en las algas verdes son aquellos que codifican distintas subunidades de la ATP sintasa mitocondrial. La ATP sintasa mitocondrial es un motor molecular constituido por un rotor compuesto por las subunidades γ , δ , ϵ y c_{10} que rotan sobre un eje perpendicular al plano de la membrana; un estator compuesto por las subunidades a, A6L, e, f, g,

b_2 , OSCP, F_6 y un centro catalítico que también es parte del estator y que está compuesto por tres subunidades α y tres subunidades β (Walker y Dickson 2006). El gen *atp9* que codifica la subunidad *c* de la ATP sintasa, normalmente se localiza en el genoma mitocondrial de las algas clorofíceas. Sin embargo, al analizar el contenido de los genomas mitocondriales publicados hemos observado que el gen *atp9* está ausente en los genomas mitocondriales de *P. minor*, *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.*. En las algas clorofíceas *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.* el gen *atp9* ha sido transferido al núcleo (Funes et al, 2002). Nuestros análisis bioinformáticos también localizan al gen *atp9* de *V. carteri* en el genoma nuclear. Asimismo, los genes *atp6* y *atp8* que codifican las subunidades a y A6L del estator de la ATP sintasa, respectivamente, normalmente se localizan en el genoma mitocondrial de las algas clorofíceas. Sin embargo, el gen *atp6* está ausente en el genoma mitocondrial de *C. reinhardtii*, *Polytomella sp.* (Funes et al, 2002) y *V. carteri* (como lo indican las búsquedas que hemos realizado); y el gen *atp8* está ausente en el genoma mitocondrial de *C. reinhardtii*, *P. capuana* y *S. obliquus*. Asimismo, los análisis bioinformáticos hechos a partir de los genomas publicados en línea de *C. reinhardtii* y *V. carteri*, indican que el gen *atp8* tampoco está presente en el genoma nuclear y probablemente desapareció en este linaje de algas.

La ausencia del gen *atp8* es notable, ya que estudios bioquímicos y bioinformáticos revelaron que la ATP sintasa mitocondrial de las algas clorofíceas *C. reinhardtii* y *Polytomella sp.* contiene un estator formado por nueve subunidades novedosas. Estas subunidades han sido denominadas ASA por las siglas en inglés para «proteínas asociadas a la ATP sintasa» y que van de ASA 1 hasta ASA 9 (Vázquez-Acevedo et al, 2006). Actualmente, mediante análisis hechos por BLAST hemos encontrado homólogos de las subunidades ASA 2 a 9 en *P. parva*, ASA 5 a 7 y 9 en *C. incerta* y ASA 4, 5, 7 y 9 en *S. obliquus*. Esto sugiere que las proteínas ASA están asociadas exclusivamente con las ATP sintasas mitocondriales de las algas clorofíceas. Será muy interesante en un futuro realizar estudios de las subunidades ASA para conocer su origen, determinar si están presentes en otras algas que no sean clorofíceas y conocer qué características bioquímicas y funcionales confieren a la ATP sintasa mitocondrial. Estos estudios permitirán conocer si existen algas clorofíceas cuyo estator esté constituido tanto por subunidades clásicas como por subunidades ASA y que por lo tanto pudieran representar intermediarios evolutivos dentro del linaje de las clorofíceas. Asimismo, estos estudios también contribuirán a dilucidar si los eventos que condujeron a la reducción del genoma mitocondrial de las algas verdes y a la pérdida de los genes que codifican las distintas subunidades del estator tradicional, están relacionadas con la adquisición de las subunidades novedosas ASA.

IMPLICACIONES DEL GENOMA MITOCONDRIAL EN LA FILOGENIA DE ALGAS CLOROFÍCEAS

Las propiedades de los genomas tales como estructura, composición, organización, contenido de genes, de intrones y número de copias de genes pueden ser una herramienta útil y alternativa para estudiar y establecer las relaciones filogenéticas que existen entre organismos, ya que evitan algunas dificultades de la filogenia molecular clásica. Normalmente, las inferencias evolutivas están basadas en las secuencias de genes, tales como rRNA pequeños (16S) que son considerados marcadores filogenéticos fidedignos por ser moléculas muy abundantes, por estar universalmente conservadas y por tener una tasa de sustituciones de nucleótidos parecida. Las fuerzas evolutivas son multidimensionales, por lo que el análisis de un solo gen puede ser insuficiente para entender completamente la divergencia entre distintas formas de vida.

La filogenia de las algas verdes está en constante revisión (Margulis y Schwartz 1998). Anteriormente, la clasificación estaba basada exclusivamente en aspectos morfológicos. Esta clasificación no es muy confiable ya que hay algas que contienen caracteres morfológicos representativos de más de un grupo (Lewis y McCourt 2004). La creciente información acerca de los genomas de las algas verdes ha ido modificando y expandiendo la visión de su filogenia. Los nuevos datos moleculares han permitido obtener clasificaciones más confiables que han asignado correctamente algas verdes que habían sido difíciles de clasificar basándose solamente en aspectos morfológicos. Sin embargo, aún existen diferencias notables entre las clasificaciones basadas en aspectos morfológicos y aquellas basadas en aspectos moleculares (Lewis y McCourt 2004).

La clasificación filogenética de las algas clorofíceas más reciente es la de Pröschold et al, que está basada en características morfológicas y en secuencias nucleares de rRNA (Pröschold 2001). Pröschold et al, han descrito 18 linajes monofiléticos o clados: *Stephanosphaera*, *Chlorogonium*, *Polytoma*, *Dunaliella*, *Monadina*, *Phacotus*, *Moewusii*, *Radiosa*, *Oogamochlamys*, *Chloromonas*, *Reinhardtii*, *Chaetophora*, *Oedogonium*, *Chaetopeltris*, *Neochloris*, *Hydrodictyon*, *Scenedesmus*, *Bracteacoccus*. Los primeros 11 clados conforman un subgrupo que se caracteriza por tener un cuerpo basal del flagelo que se desplaza en dirección opuesta a las manecillas del reloj.

Nosotros proponemos que en el linaje de las algas clorofíceas, ocurrieron cambios evolutivos que probablemente sucedieron una sola vez y que dieron lugar a una mayor reducción del genoma mitocondrial respecto a los otros grupos de algas verdes. Esto se debió a una transferencia de genes mitocondriales al núcleo, entre los cuales se encuentran los genes que codifican subunidades de la citocromo c

oxidasa y de la ATP sintasa. Por una parte, esta transferencia dio origen a los genes fragmentados *cox2a* y *cox2b* en el genoma nuclear del linaje de algas clorofíceas. Por otra parte, los genes *atp* que codifican las distintas subunidades del estator clásico de la ATP sintasa mitocondrial desaparecieron del genoma mitocondrial y surgieron en el genoma nuclear genes que codifican las subunidades novedosas de la ATP sintasa mitocondrial (subunidades ASA 1-9). De esta manera, basándonos exclusivamente en la transferencia de genes al genoma nuclear y en la ausencia de genes en el genoma mitocondrial, la presencia de los genes fragmentados que codifican la subunidad COXII y los genes que codifican las subunidades ASA del estator de la ATP sintasa mitocondrial en el genoma nuclear y su correspondiente ausencia del genoma mitocondrial, podría servir como un marcador genético para resolver controversias en el linaje de las algas clorofíceas. En otras palabras, nosotros hipotetizamos que la presencia de subunidades COXII fragmentadas en la citocromo c oxidasa y de subunidades ASA en la ATP sintasa mitocondrial, pueden ser marcadores exclusivos de las algas clorofíceas.

Hasta ahora no se ha encontrado ninguna propiedad genómica que por sí sola pueda representar un marcador filogenético confiable, por lo que la integración de la información de diferentes propiedades genómicas es deseable (Tamames 2001). Se espera que en el futuro la creciente información acerca del genoma de las algas verdes así como el uso combinado de distintas características de los genomas nucleares y mitocondriales contribuya a obtener una visión más completa de la filogenia de algas verdes que permita dilucidar las relaciones entre las algas del linaje de las clorofíceas.

CONCLUSIONES

El conocer los principales eventos en la evolución de los eucariontes es un reto difícil en el estudio de la evolución, principalmente porque los eventos son muy antiguos e imposibles de comprobar. El origen endosimbiótico de la mitocondria ha constituido una fuente importante de material genético que ha contribuido a incrementar la complejidad genética del hospedero (Hartman y Fedorov 2002 y Andersson et al, 2003). La adquisición de un genoma o fragmentos de un genoma provee a un organismo de nuevas posibilidades para cambiar drásticamente sin perder su coherencia y viabilidad. Así, la innovación en la evolución de los genomas mitocondriales no depende solamente de la acumulación de mutaciones o duplicaciones (Margulis y Sagan 2003).

Los genomas mitocondriales presentan características que los hacen muy efectivos en la reconstrucción de relaciones filogenéticas. La primera, es que son heredados de manera uniparental, por lo que no hay recombinación de

los genomas maternos y paternos. La segunda, es la presencia de caracteres que resultan de eventos moleculares raros que probablemente hayan ocurrido solamente una vez a lo largo de la evolución, tales como el rearreglo, la presencia o la ausencia de genes. Dadas estas características, se puede comprobar un dinamismo entre el genoma nuclear y el genoma mitocondrial de las algas verdes a lo largo de su historia evolutiva que permite utilizar características de ambos genomas para establecer relaciones filogenéticas en las algas verdes. Proponemos que la fragmentación del gen *cox2* y la adquisición de subunidades ASA por el genoma nuclear pueden constituir un marcador genético exclusivo del linaje de las algas clorofíceas. En otras palabras, nuestra hipótesis es que aquellas algas verdes que contienen el gen *cox2* fragmentado, también tienen una ATP sintasa con subunidades ASA.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Xóchitl Pérez-Martínez (Instituto de Fisiología Celular, UNAM) y al Dr. Roberto Hernández Fernández (Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM) por la discusión, las sugerencias y los comentarios al manuscrito. Este trabajo ha sido apoyado por el donativo 56619 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) y por el donativo IN217108 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México. E.R.S. realiza sus estudios en el Programa de Doctorado de Ciencias Biomédicas (UNAM) y es becaria del CONACyT (203465).

REFERENCIAS

- Adams KL., & J. D. Palmer. 2003. Evolution of mitochondrial gene content: gene loss and transfer to the nucleus. *Mol Phylogenet Evol.* 29: 380-395.
- Andersson, SGO, Karlberg, B. Canbäck & CG. Kurland. 2003. On the origin of mitochondria: a genomics perspective. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 358: 165-179.
- Babushok, D. V., E. M. Ostertag & H. H. Jr. Kazazian. 2007. Current topics in genome evolution: molecular mechanisms of new gene formation. *Cell Mol Life Sci.* 64: 542-554.
- Barr, C. M., M. Neiman & D. R. Taylor. 2005. Inheritance and recombination of mitochondrial genomes in plants, fungi and animals. *New Phytol.* 168(1):39-50.
- Boer, P. H. & M. W. Gray. 1988. Genes encoding a subunit of respiratory NADH dehydrogenase (ND1) and a reverse transcriptase-like protein (RTL) are linked to ribosomal RNA gene pieces in *Chlamydomonas reinhardtii* mitochondrial DNA. *EMBO J.* 7: 3501-3508.
- Brown, W. M., M. Jr. George & A. C. Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 76: 1967-1971.
- Bullerwell, D. E. & M. W. Gray. 2004. Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants. *Curr Opin Microbiol.* 7: 528-534.
- Burger, G., M. W. Gray & B. F. Lang. 2003. Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends Genet.* 19(12):709-16.
- Conway, D. J., C. Fanello, J. M. Lloyd, B. M. Al-Jouhori, A. H. Balloch, S. D. Somanath, C. Roper, A. M. Oduola, B. Mulder, M. M. Pova, B. Singh & A. W. Thomas. 2000. Origin of *Plasmodium falciparum* malaria is traced by mitochondrial DNA. *Mol Biochem Parasitol.* 111: 163-171.
- Denovan-Wright, E. M., A. M. Nedelcu & R. W. Lee. 1998. Complete sequence of the mitochondrial DNA of *Chlamydomonas eugametos*. *Plant Mol Biol.* 36: 285-295.
- Dieckmann, C. L. & B. Gandy. 1987. Preferential recombination between GC clusters in yeast mitochondrial DNA. *EMBO J.* 6: 4197-4203.
- Fan, J. & R. W. Lee. 2002. Mitochondrial genome of the colorless green alga *Polytomella parva*: two linear DNA molecules with homologous inverted repeat Termini. *Mol Biol Evol.* 19: 999-1007.
- Fauron, C., M. Casper, Y. Gao & B. Moore. 1995. The maize mitochondrial genome: dynamic, yet functional. *Trends Genet.* 11: 228-235.
- Fedorova, L. & A. Fedorov. 2003. Introns in gene evolution. *Genetica.* 118: 123-131.
- Funes, S., E. Davidson, A. Reyes-Prieto, S. Magallón, P. Herion, M. P. King & D. González-Halphen. 2002. A green algal apicoplast ancestor. *Science.* 298: 2155.
- Funes, S., E. Davidson, M. G. Claros, R. van Lis, X. Pérez-Martínez, M. Vázquez-Acevedo, M. P. King & D. González-Halphen. 2002. The typically mitochondrial DNA-encoded ATP6 subunit of the F1F0-ATPase is encoded by a nuclear gene in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Biol Chem.* 277: 6051-6058.
- Funes, S., X. Pérez-Martínez, A. Antamarian., M. Vázquez-Acevedo, R. van Lis, A. Reyes-Prieto, J. I. Santillán-Torres, M. G. Claros, E. Davidson, M. P. King & D. González-Halphen. 2002. Transfer of Mitochondrial Genes to the Nucleus in *Chlamydomonas* Algae: Perspectives for the Allotopic Expression of OX-PHOS Proteins and Future Human therapies. pp. 173-194. *Recent Research Developments in bioenergetics. Research Signpost, India.*
- González-Halphen, D., X. Pérez-Martínez, S. Funes, A. Reyes-Prieto & J. L. Santillán-Torres. 2003. La migración de genes de la mitocondria al núcleo y la evolución de los genomas mitocondriales. *Mensaje Bioquímico. Vol. XXVII:* 201-220.
- Gray, M. W., B. F. Lang, R. Cedergren, G. B. Golding, C. Lemieux, D. Sankoff, M. Turmel, N. Brossard, E. Delage, T. G. Littlejohn, I. Plante, P. Rioux, D. Saint-Louis, Y. Zhu & G. Burger. 1998. Genome structure and gene content in protist mitochondrial DNAs. *Nucleic Acids Res.* 26: 865-878.
- Gray, M. W., G. Burger & B. F. Lang. 1999. Mitochondrial evolution. *Science.* 283: 1476-1481.
- Gray, M. W., G. Burger & B. F. Lang. 2001. The origin and early evolution of mitochondria. *Genome Biol.* 2: 1018.1-1018.5.
- Hartman, H. & A. Fedorov. 2002. The origin of the eukaryotic cell: a genomic investigation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99: 1420-1425.
- Haugen, P., D. M. Simon & D. Bhattacharya. 2005. The natural history of group I introns. *Trends Genet.* 21(2):111-9.
- Katz, L. A. 2002. Lateral gene transfers and the evolution of eukaryotes: theories and data. *Int J Syst Evol Microbiol.* 52: 1893-1900.
- Knight, R. D., L. F. Landweber & M. Yarus. 2001. How mitochondria redefine the code. *J Mol Evol.* 53(4-5):299-313.
- Kroymann, J. & K. Zetsche. 1998. The mitochondrial genome of *Chlorogonium elongatum* inferred from the complete sequence. *J Mol Evol.* 47: 431-440.
- Lang, B. F., G. Burger, C. J. O'Kelly, R. Cedergren, G. B. Golding, C. Lemieux, D. Sankoff, M. Turmel & M. W. Gray. 1997. An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature.* 387: 493-497.
- Lewis, L. A. & R. M. McCourt. 2004. Green algae and the origin of land plants. *Am J Bot.* 91: 1535-1556.
- Logan, D. C. 2007. The mitochondrial compartment. *J Exp Bot.* 58: 1225-1243.
- Louis, E. J. 2007. Evolutionary genetics: making the most of redundancy. *Nature.* 449: 677-681.

31. Margulis L. 1975. Symbiotic theory of the origin of eukaryotic organelles; criteria for proof. *Symp Soc Exp Biol.* (29):21-38.
32. Margulis, L. & D. Sagan. 2003. *Acquiring Genomes: A Theory of the Origins of Species.* pp. 201-205 Basic Books USA.
33. Margulis, L. & K.V. Schwartz. 1998. *Five Kingdoms: An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth.* pp. 192-193. 3ra ed. W. H. Freeman and company. N Y.
34. Mentel, M. & W. Martin. 2008. Energy metabolism among eukaryotic anaerobes in light of Proterozoic ocean chemistry. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 363(1504):2717-29.
35. Morris, J. C., M. E. Drew, M. M. Klingbeil, S. A. Motyka, T. T. Saxowsky, Z. Wang & P. T. Englund. 2001. Replication of kinetoplast DNA: an update for the new millennium. *Int J Parasitol.* 31: 453-458.
36. Mühlenhoff, U. & R. Lill. 2000. Biogenesis of iron-sulfur proteins in eukaryotes: a novel task of mitochondria that is inherited from bacteria. *Biochim Biophys Acta.* 1459: 370-382.
37. Nedelcu, A. M. & R. W. Lee. 1998. Short repetitive sequences in green algal mitochondrial genomes: potential roles in mitochondrial genome evolution. *Mol Biol Evol.* 15: 690-701.
38. Nedelcu, A. M., R. W. Lee, Lemieux C, Gray MW & G. Burger. 2000. The complete mitochondrial DNA sequence of *Scenedesmus obliquus* reflects an intermediate stage in the evolution of the green algal mitochondrial genome. *Genome Res.* 10: 819-831.
39. Pérez-Martínez, X., A. Antaramian, M. Vázquez-Acevedo, S. Funes, E. Tolkunova, J. d'Alayer, M. G. Claros, E. Davidson, M. P. King & D. González-Halphen. 2001. Subunit II of cytochrome c oxidase in *Chlamydomonas* algae is a heterodimer encoded by two independent nuclear genes. *J Biol Chem.* 276: 11302-11309.
40. Pérez-Martínez, X., M. Vázquez-Acevedo, E. Tolkunova, S. Funes, M. G. Claros, E. Davidson, M. P. King & D. González-Halphen. 2000. Unusual location of a mitochondrial gene. Subunit III of cytochrome C oxidase is encoded in the nucleus of *Chlamydomonas* algae. *J Biol Chem.* 275: 30144-30152.
41. Pombert, J. F., C. Otis, C. Lemieux & M. Turmel. 2004. The complete mitochondrial DNA sequence of the green alga *Pseudoclonium akinetum* (Ulvophyceae) highlights distinctive evolutionary trends in the chlorophyta and suggests a sister-group relationship between the Ulvophyceae and Chlorophyceae. *Mol Biol Evol.* 21: 922-935.
42. Pombert, J. F., P. Beauchamp, C. Otis, C. Lemieux & M. Turmel. 2006. The complete mitochondrial DNA sequence of the green alga *Oltmannsiellopsis viridis*: evolutionary trends of the mitochondrial genome in the Ulvophyceae. *Curr Genet.* 50: 137-147.
43. Pont-Kingdon, G., N. A. Okada, J. L. Macfarlane, C. T. Beagley, C. D. Watkins-Sims, T. Cavalier-Smith, G. D. Clark-Walker & D. R. Wolstenholme. 1998. Mitochondrial DNA of the coral *Sarcophyton glaucum* contains a gene for a homologue of bacterial MutS: a possible case of gene transfer from the nucleus to the mitochondrion. *J Mol Evol.* 46: 419-431.
44. Poole, A. M. & D. Penny. 2007. Evaluating hypotheses for the origin of eukaryotes. *Bioessays.* 29: 74-84.
45. Pröschold T, B. Marin, U. G. Schlösser & M. Melkonian. 2001. Molecular phylogeny and taxonomic revision of *Chlamydomonas* (Chlorophyta). Emendation of *Chlamydomonas* Ehrenberg and *Chloromonas* Gobi, and description of *Oogamochlamys* gen. nov. and *Lobochlamys* gen. nov. *Protist.* 152: 265-300.
46. Robbins, S., E. Derelle, C. Ferraz, J. Wuyts, H. Moreau & Y. Van de Peer. 2007. The complete chloroplast and mitochondrial DNA sequence of *Ostreococcus tauri*: organelle genomes of the smallest eukaryote are examples of compaction. *Mol Biol Evol.* 24: 956-968.
47. Saccone, C., C. Lanave & A. De Grassi. 2006. Metazoan OXPHOS gene families: evolutionary forces at the level of mitochondrial and nuclear genomes. *Biochim Biophys Acta.* 1757: 1171-1178.
48. Salinas, T., A. M. Duchêne & L. Maréchal-Drouard. 2008. Recent advances in tRNA mitochondrial import. *Trends Biochem Sci.* 33: 320-329.
49. Schmidt, E. E. & C. J. Davies. 2007. The origins of polypeptide domains. *Bioessays.* 29: 262-270.
50. Smith, D. R. & R. W. Lee. 2008. Mitochondrial genome of the colorless green alga *Polytomella capuana*: a linear molecule with an unprecedented GC content. *Mol Biol Evol.* 25: 487-496.
51. Sugino, R. P. & H. Innan. 2006. Selection for more of the same product as a force to enhance concerted evolution of duplicated genes. *Trends Genet.* 22(12):642-4.
52. Tamames, J. 2001. Evolution of gene order conservation in prokaryotes. *Genome Biol.* 2: 20.1-20.11.
53. Terasawa, K., M. Odahara, Y. Kabeya, T. Kikugawa, Y. Sekine, M. Fujiwara & N. Sato. 2007. The mitochondrial genome of the moss *Physcomitrella patens* sheds new light on mitochondrial evolution in land plants. *Mol Biol Evol.* 24: 699-709.
54. Timmis, J. N., M. A. Ayliffe, C. Y. Huang & W. Martin. 2004. Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat Rev Genet.* 5: 123-135.
55. Turmel, M., C. Lemieux, G. Burger, B. F. Lang, C. Otis, I. Plante & M. W. Gray. 1999. The complete mitochondrial DNA sequences of *Nephroselmis olivacea* and *Pedinomonas minor*. Two radically different evolutionary patterns within green algae. *Plant Cell.* 11: 1717-1730.
56. Ueda, M., M. Fujimoto, S. I. Arimura, N. Tsutsumi & K. I. Kadowaki. 2008. Presence of a latent mitochondrial targeting signal in gene on mitochondrial genome. *Mol Biol Evol.* 25(9):1791-1793.
57. Vahrenholz, C., G. Riemen, E. Pratje, B. Dujon & G. Michaelis. 1993. Mitochondrial DNA of *Chlamydomonas reinhardtii*: the structure of the ends of the linear 15.8-kb genome suggests mechanisms for DNA replication. *Curr Genet.* 24(3):241-7.
58. van Lis, R., D. González-Halphen & A. Atteia. 2005. Divergence of the mitochondrial electron transport chains from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and its colorless close relative *Polytomella* sp. *Biochim Biophys Acta.* 1708(1):23-34.
59. Vázquez-Acevedo, M., P. Cardol, A. Cano-Estrada, M. Lapaille, C. Remacle & D. Gonzalez-Halphen. 2006. The mitochondrial ATP synthase of chlorophycean algae contains eight subunits of unknown origin involved in the formation of an atypical stator-stalk and in the dimerization of the complex. *J Bioenerg Biomembr.* 38: 271-282.
60. Walker, J. E. & V. K. Dickson. 2006. The peripheral stalk of the mitochondrial ATP synthase. *Biochim Biophys Acta.* 1757(5-6):286-96.
61. Waller, R. F. & P. J. Keeling. 2006. Alveolate and chlorophycean mitochondrial *cox2* genes split twice independently. *Gene.* 383: 33-37.
62. Wolff, G., I. Plante, B. F. Lang, U. Kück & G. Burger. 1994. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the chlorophyte alga *Protheca wickerhamii*. Gene content and genome organization. *J Mol Biol.* 237: 75-86.

Correspondencia:

Diego González Halphen

Departamento de Genética Molecular,
 Instituto de Fisiología Celular,
 Universidad Nacional Autónoma de México,
 Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria,
 Coyoacán, México, D.F. 04510, México.
 Teléfono: +52-55-5622-56-20,
 Fax: +52-55-5622-56-11
 E-mail: dhalphen@ifc.unam.mx