

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Magdaléna Pavlátová

Ztráta exkavátních znaků ve skupině Excavata

Loss of excavate features in Excavata

Bakalářská práce

Školitel: prof. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 13. 5. 2020

.....
Magdaléna Pavlátová

Poděkování:

V první řadě děkuji svému školiteli prof. Ivanu Čepičkovi za výborné vedení, trpělivost a ochotu zodpovědět na veškeré mé dotazy a dále pak Mgr. Pavle Hanouskové za to, že mne zasvětila do práce v laboratoři a vždy si na mne vyhradila drahocenný čas.

Abstrakt

Excavata jsou superskupina protist, která patří do domény Eukaryota. Je to velice diverzifikovaný taxon, zahrnuje volně žijící organismy, komenzály, ale i parazitické zástupce jak zvířat, tak lidí. Excavata se dělí na dvě hlavní skupiny Metamonada a Discoba, ovšem z morfologického hlediska by se sem řadila ještě skupina Malawimonadida. Vzájemné vztahy, stejně tak jako monofylie exkavát, nejsou dosud jasné. Poslední společný předek exkavát, snad i eukaryot, nesl takzvanou ventrální rýhu, kterou probíhal zpětný bičík. Vyznačoval se i dalšími typickými cytoskeletárními strukturami, které vyztužují ventrální rýhu a ploutvičky na bičíku. Tyto znaky se u některých exkavátů zachovaly dodnes. V průběhu evoluce však u mnohých linií došlo k redukci nebo ztrátě ventrální rýhy a tito zástupci, které označuji jako neexkavátní exkaváty, převažují. Ve své práci se zabývám ultrastrukturou jednotlivých linií neexkavátních exkavát a porovnávám jejich cytoskeletárním systém s cytoskeletem typického exkaváta. V závěru je diskutováno, jak a proč k redukci exkavátních znaků u jednotlivých linií mohlo dojít a z jakého důvodu je zapotřebí se taxonem Excavata dále zabývat.

Klíčová slova: exkavát, neexkavátní exkavát, typický exkavát, ultrastruktura, ventrální rýha, evoluce

Abstract

Excavata is a supergroup of protists belonging to the Eukaryota domain. It is a very diverse taxon that comprises free-living organisms, commensals, and also parasites of animals and humans. Excavata is divided into two main lineages, Metamonada and Discoba, but from the morphological point of view the group Malawimonadida should belong here as well. The internal relationships as well as the monophyly of excavates have not been satisfactorily elucidated yet. The last common ancestor of excavates, perhaps even of all eukaryotes, had a ventral feeding groove, which was associated with a recurrent flagellum. This organism also possessed certain cytoskeletal structures that supported the ventral groove and vanes on the recurrent flagellum. These features have been preserved in some excavates to this day. However the ventral groove has been reduced or lost in many lineages during the evolution and these representatives, which I refer to as non-excavate excavates, prevail. The aim of this thesis is to describe the ultrastructure of particular lineages of non-excavate excavates and to compare their cytoskeletal system with the cytoskeleton of typical excavates. The loss of excavate features in these lineages is discussed.

Key words: excavate, non-excavate excavate, typical excavate, ultrastructure, ventral groove, evolution

1. Úvod.....	1
2. Diverzita taxonu Excavata	2
3. Exkavátní vs. neexkavátní exkavát	4
4. Cytoskeletární systém typických exkavát	4
5. Představení jednotlivých linií neexkavátních exkavát a jejich ultrastruktury	8
5.1. Metamonada	9
5.1.1. Diplomonadida.....	9
5.1.2. Caviomonadidae	11
5.1.3. Parabasalia	12
5.1.4. Oxymonadida.....	17
5.2. Discoba	19
5.2.1. Euglenozoa.....	19
5.2.2. Heterolobosea	21
5.2.3. Tsukubamonadida	25
6. Závěr.....	27
7. Zdroje	29

1. Úvod

Excavata je velice diverzifikovaný taxon, přestože na počet druhů příliš bohatý není. Excavata jsou jednou z eukaryotických superskupin, jejíž zástupci jsou výhradně protisté. Vztahy uvnitř této superskupiny nejsou rozřešeny a stále není jasné, zda je monofyletická či polyfyletická. Některé studie se přiklání spíše k monofylii (Hampl et al., 2009), jiné, novější studie, podporují polyfylii skupiny (Heiss et al., 2018), ale jak tomu doopravdy je, je stále ještě předmětem výzkumu.

Taxon Excavata se zdá být klíčový pro výzkum rané evoluce eukaryot a posledního společného předka všech eukaryot (LECA). Je totiž možné, že se kořen eukaryotického stromu nachází právě uvnitř této superskupiny. Kdyby se toto tvrzení potvrdilo, znamenalo by to, že byl LECA exkavát. Abychom pochopili dávnou evoluci eukaryot, je tedy zcela nezbytné se tímto taxonem hlouběji zabývat.

U Excavata se setkáváme s mnoha různými životními strategiemi. Mimo jiné sem patří několik anaerobních linií, s čímž je spojena přeměna mitochondrií na hydrogenosomy nebo mitosomy. Patří sem i jediná známá linie eukaryotických organismů, u které došlo k úplnému zániku mitochondrie, totiž oxymonády (Metamonada: Preaxostyla: Oxymonadida). Studium taxonu Excavata je také důležité z medicínálního hlediska, jelikož sem patří mnoho lidských i zvířecích parazitů jako jsou například *Naegleria fowleri* (Heterolobosea), *Gairdia intestinalis* (Diplomonadida), *Trichomonas vaginalis*, *Tritrichomonas foetus*, *Histomonas meleagridis* (Parabasalia), *Trypanosoma brucei*, *T. cruzi*, *Leishmania* spp. (Euglenozoa) a další.

Původně byl tento taxon definován pouze na základě morfologických znaků, až později, s nástupem molekulárních analýz, se začalo ukazovat, že sem patří i linie ultrastrukturně zcela odlišné. Tyto linie, které se svou ultrastrukturou liší od typického zástupce exkavát, v taxonu převažují. Příbuzenské vztahy mezi Excavata však nejsou zatím zcela vyjasněny. Pro jejich zkoumání je bezpochyby důležité se zabývat ultrastrukturou napříč skupinami a právě tímto tématem se zabývám i ve své práci. Cílem mé práce je shrnout známé informace o ztrátě typických exkavátních znaků v rámci taxonu Excavata. Vyzdvihnu skupiny, u kterých došlo v průběhu evoluce ke změně typicky exkavátního cytoskeletu, a dále cytoskeletární systém těchto skupin porovnam s původním (ancestrálním) stavem u exkavát.

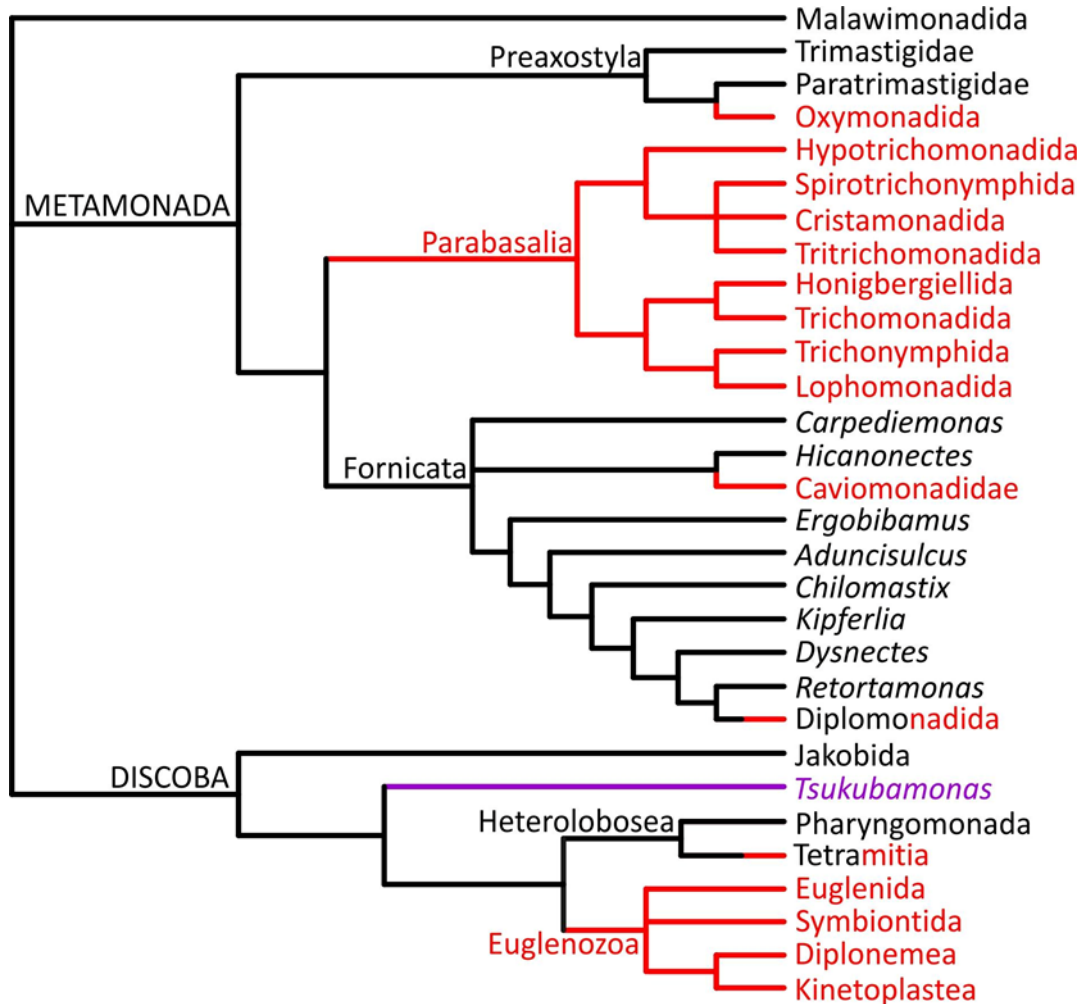
2. Diverzita taxonu Excavata

Mezi Excavata jsou dnes obvykle řazeny dvě hlavní skupiny, a to Metamonada a Discoba (Adl et al., 2019). Kdybychom posuzovali pouze morfologické znaky, jednoznačně by do exkavát patřila ještě skupina Malawimonadida, která se sem historicky skutečně řadila (Adl et al. 2012). Její fylogenetická pozice je však nejasná a problematická. Je to malá skupina obsahující pouze dva rody bičíkovců, kteří se nápadně podobají některým exkavátům, např. jakobidům (Discoba) nebo „*Carpediemonas*-like“ organismům (Metamonada). Fylogenomické studie, které by aspoň částečně potvrdily blízkou příbuznost všech tří skupin, tj. metamonád, malawimonád a Discoba, je velmi málo. Ve většině takových prací se malawimonády umisťují odděleně od metamonád i Discoba (Zhao et al., 2012; Rodriguez-Ezpeeta et al., 2007; Derelle et al., 2015), což je důvod, proč dnes malawimonády nejsou obvykle zařazovány mezi Excavata. Zajímavá je ovšem nedávná studie Heisse a kolektivu (2018), podle kterých by mohly být malawimonády specificky příbuzné metamonádám. Ani zde však Excavata netvoří monofyletickou skupinu, protože Discoba se umístily do jiné části fylogenetického stromu. Heiss a kolektiv (2018) usuzují, že vyčlenění malawimonád z taxonu Excavata je nedostatečně podpořeno.

Cavalier-Smith (2003) z ultrastrukturních podobností mezi *Carpediemonas* a *Malawimonas* a také mezi *Carpediemonas* a retortamonádami vyvozuje možnost, že metamonády pochází z organismu, který se podobal *Malawimonas* (Cavalier-Smith, 2003). V pozdějších studiích říká, že všechny eukaryotické organismy se vyvinuli z exkavát (Cavalier-Smith, 2014), s čímž souhlasí například i He a kolektiv (2014). Jiné studie tvrdí, že na základě obdobné morfologie nelze přímo usuzovat, že poslední společný předek eukaryot měl exkavátní uspořádání cytoskeletu (Heiss et al., 2018). V této práci se přikláním k tvrzení, že Malawimonadida nepatří mezi Excavata, ale představují další skupinu, u které se zachovaly původní znaky LECA, tj. exkavátnosti (viz níže).

Skupina Discoba zahrnuje Jakobida, bičíkovce *Tsukubamonas* a Discicristata, kteří sjednocují Heterolobosea a Euglenozoa (viz Obr. 1; Hampl et al., 2009; Yabuki et al., 2011; Burki et al., 2020). Euglenozoa zahrnují čtyři hlavní podskupiny Euglenida, Kinetoplastea, Diplonemea (David & Archibald, 2016) a Symbiontida (Adl et al., 2019; Yubuki et al., 2013c). Mezi Metamonada řadíme skupiny Fornicata, Parabasalia, Preaxostyla (Adl et al. 2019). Prexostyla se skládají ze tří linií Trimastigidae, Paratrimastigidae a Oxymonadida a Parabasalia dělíme na osm řádů. Skupina Fornicata zahrnuje Diplomonadida, polyfyletické Retortamonadida a „*Carpediemonas*-like“ organismy, které se dělí do oddělených rodů, mezi

kterými nejsou rozřešeny příbuzenské vztahy, *Aduncisculus*, *Carpediemonas*, *Dysnectes*, *Ergobibamus*, *Hicanonectes*, *Chilomastix* a *Kipferlia* (viz Obr. 1; Bernard et al., 1997; Park et al., 2009; Park et al., 2010; Simpson & Patterson, 1999; Yubuki et al., 2007; Yubuki et al., 2013b, Yubuki et al., 2016b).



Obrázek č. 1 Evoluční schéma taxonu Excavata; černé větve vedou ke skupinám typických exkavát, červené ke skupinám neexkavátních exkavát, kombinací obou barev jsou znázorněny skupiny, ve kterých jsou jak exkavátní, tak neexkavátní zástupci, fialově je znázorněn rod *Tsukubamonas*, který sice má ventrální rýhu, ale značně pozměněnou, a proto se mu zde věnují; Zdroj: Čepička, nepublikováno

3. Exkavátní vs. neexkavátní exkavát

Taxon Excavata byl původně definován pouze na základě ultrastrukturních znaků, zejména ventrální rýhy a přídatného cytoskeletu. Podélná ventrální rýha je jejich klíčovým morfologickým znakem, leží v ní cytostom a probíhá jí zpětný bičík opatřený ploutvičkami. Zpětným bičíkem buňka vytváří proud vody a nahání si potravu (bakterie) do cytostomu. Simpson a Patterson (1999) ve své studii popsali ultrastrukturu bičíkovce *Carpodiemonas membranifera* (Metamonada: Fornicata) a cytoskeletární systém tohoto druhu homologizovali s cytoskeletem dalších skupin, v té době známých protist s ventrální rýhou, a to *Trimastix*, *Malawimonas*, Heterolobosea, Diplomonadida a Retortamonadida. Tyto organismy nazvali exkavátní taxony. Na základě této studie formulovali takzvanou exkavátní hypotézu, která sdružuje exkavátní taxony do jedné skupiny (Simpson & Patterson, 1999). Takovéto organismy s exkavátní rýhou ve své práci budu označovat jako **typické exkaváty**. Později, na základě výsledků z molekulárně-fylogenetických studií, se začalo ukazovat, že mezi exkaváta patří i některé linie protist bez ventrální rýhy, jako jsou například Euglenozoa, Parabasalia a Oxymonadida. Taxon Excavata formálně zavedl Cavalier-Smith (2002).

Jednotlivým liniím typických exkavátů jsou obvykle příbuzné linie protist, jejichž zástupci ventrální rýhu nemají. Tyto zástupce zde označuji jako **neexkavátní exkaváty**. Pokud platí exkavátní hypotéza, předkové neexkavátních exkavát museli ventrální rýhu mít. Cytoskeletární systém jednotlivých neexkavátních exkavát se ovšem obtížně porovnává, ke ztrátě exkavátní rýhy a následné modifikaci cytoskeletu došlo mnohokrát nezávisle na sobě. Právě tito zástupci taxonu Excavata co do počtu druhů zcela převažují nad typickými exkaváty (Simpson et al., 2003).

4. Cytoskeletární systém typických exkavát

K porovnávání cytoskeletárních elementů napříč skupinami Excavata je zde využívána terminologie, kterou navrhli Yubuki & Leander (2013) a která se v poslední době prosadila u protist obecně (v řadě publikací starších než z roku 2013 se využívá jiná terminologie). Bazální tělíska, asociované bičíky a mikrotubulární kořeny mají různý původ a stáří. Bazální tělísko, ze kterého obvykle vyrůstá přední bičík, je mladší a je označováno jako bazální tělísko 2 (B2). Druhé bazální tělísko je starší, je označováno jako B1 a často z něj vyrůstá zpětný bičík. V publikacích před rokem 2013 jsou totiž hlavní mikrotubulární kořeny R1 a R2 (viz níže) pojmenovány obráceně, to znamená, že R1-pravý kořen podle Yubuki & Leander

(2013) se ve starších publikacích označuje jako levý kořen a R2-levý kořen podle Yubuki & Leander (2013) se ve starších publikacích označuje jako pravý (např. Lara et al., 2006; Simpson et al., 2002; Simpson & Patterson, 2001). Obdobný problém nastal i u kořenů R3 a R4, kterým se však v této práci téměř nebudu věnovat. K porozumění cytoskeletárního systému u neexkavátních exkavát je nutné zprvu popsat cytoskeletární systém typických exkavát, jelikož právě z něj je neexkavátní cytoskelet odvozený.

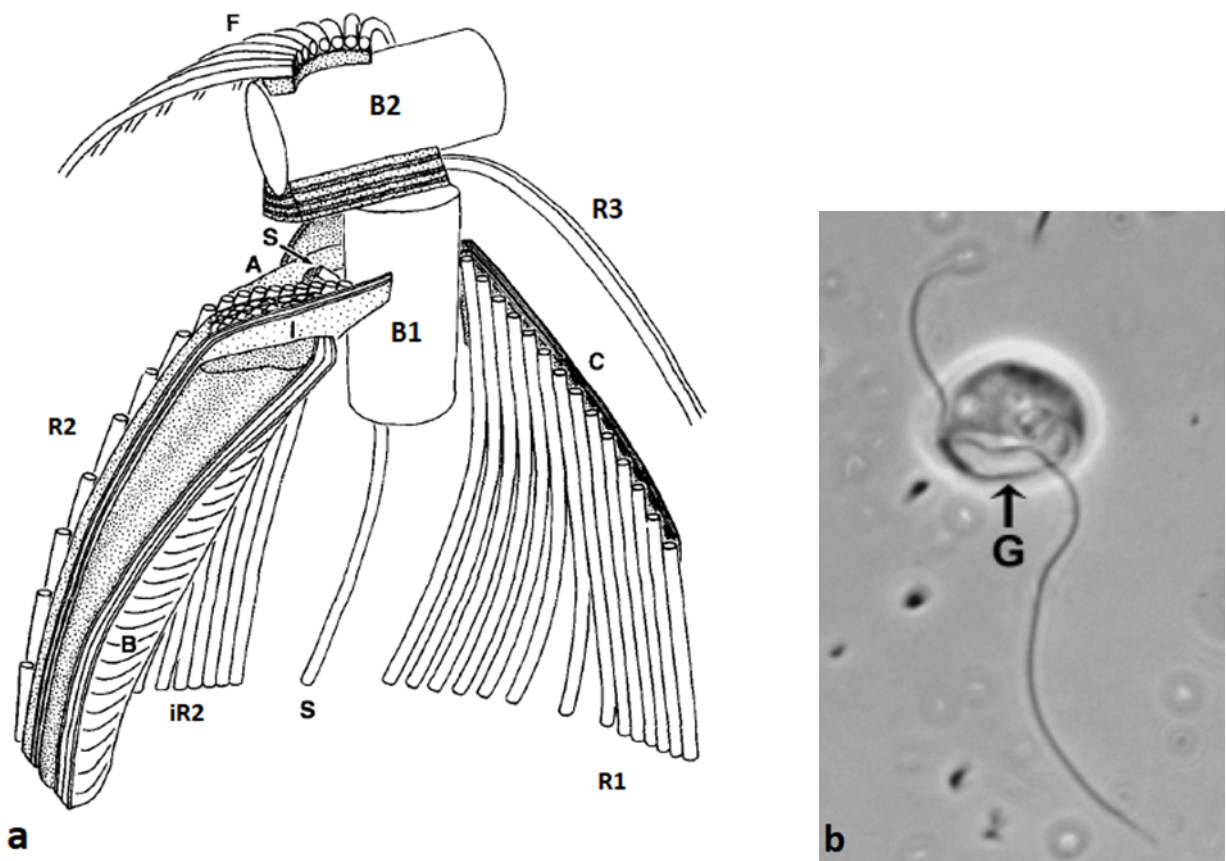
Předpokládá se, že předek exkavát měl dvě bazální tělíska bičíků (a dva bičíky) (Cavalier-Smith, 2002; Cavalier-Smith et al., 2014). Tento stav se zachoval např. u jakobidů, v některých skupinách se však mohou objevit i čtyři bazální tělíska, například u metamonád, jindy i jiný počet jako jsou tři a někdy až tisíce (Simpson, 2003). Známe i zástupce s jedním bičíkem, konkrétně například trypanosomatidi (Euglenozoa) nebo bez bičíku – měňavky bez bičíkatého životního stádia ze skupiny Heterolobosea. Trypanosomatidi i heterolobózní měňavky jsou však neexkavátní exkaváti.

Bičíkový aparát typického exkaváta je umístěn v přední část buňky, skládá se z bazálních tělísek a s nimi asociovaných struktur. Přední bičík F2 není příliš zajímavý, ale zpětný bičík F1 je opatřen na dorzální straně jednou nebo několika ploutvičkami, které jsou vyztuženy nemikrotubulárním cytoskeletem (Lara et al., 2006; Simpson & Patterson 2001). Organismus pomocí bičíku, který má díky ploutvičce větší povrch, generuje proud, jímž si přihrání potravu (Simpson, 2017a). Ploutvičky na zpětném bičíku má většina typických exkavát. Výjimkou jsou zástupci skupiny Heterolobosea či diplomonády.

Bazální tělíska ukotvují nejen bičíky, ale také systém mikrotubulárního a nemikrotubulárního cytoskeletu. Starší bazální tělísko B1 (z něj vybíhá zpětný bičík F1) je umístěno za mladším bazálním tělískem B2 (z něj vybíhá přední bičík F2). Mikrotubulární kořeny asociované s B1 se označují jako pravý kořen (R1), levý kořen (R2) a „singlet root“ (S) (viz Obr. 2; Simpson & Patterson, 2001). S B1 je asociováno i několik nemikrotubulárních cytoskeletárních struktur. Mikrotubulární kořen spojený s B2 se označuje jako kořeny R3 (viz Obr. 2). R3 se nachází u jakobidů, dále u rodů *Trimastix* a *Paratrimastix* (Preaxostyla) a u exkavátních fornikát až na *Retortamonas* a *Chilomastix*. Homolog exkavátního R3 je u neexkavátních zástupců Euglenozoa, Diplomonadida a Oxymonadida. Ultrastruktura napříč skupinami exkavátních exkavát je velmi podobná a obvykle se liší pouze v drobnostech (Simpson, 2003; Yubuki et al., 2016).

Pravý kořen (R1) vychází z pravé strany B1 a táhne se do zadní části buňky. Tvoří jej plochá řada mikrotubulů, přičemž k bazálnímu tělísku přiléhají asi dva mikrotubuly a jejich počet postupně narůstá směrem k distální části B1 (Simpson & Patterson 2001; Yubuki et al.,

2007). R1 spolu s dalšími strukturami vyztužuje pravou část ventrální rýhy (viz Obr. 2). Z pravé strany B1 vyrůstá C fibrila, která směřuje k zadnímu konci buňky a je napojená na dorzální stranu R1 (Yubuki et al., 2013b). Je to vícevrstevná struktura, která se u *Stygiella incarcerata* (Jakobida) skládá ze tří vrstev, ale například u *Jakoba libera* (Patterson, 1990) (Jakobida) je složena ze čtyřech či u *Carpediemonas membranifera* (Fornicata) ze dvou vrstev (viz Obr. 2) (Simpson & Patterson, 1999).



Obrázek č. 2

a) Schéma bičíkového aparátu *Stygiella incarcerata* (Discoba: Jakobida), na kterém lze vidět přední část buňky z ventrálního pohledu, bazální tělíska, mikrotubulární kořeny a nemikrotubulární komponenty; A= A fibrila, B= B fibrila, B1= bazální tělísko zpětného bičíku, B2= přední bazální tělísko, C= C fibrila, F= dorzální vějíř mikrotubulů, I= I fibrila, iR2= vnitřní část R2, R1= pravý kořen, R2= levý kořen před rozdělením, R3= přední kořen, S= „singlet root“; upraveno podle: Simpson & Patterson, 2001

b) Buňka *Hicanonectes teleskopos* (Metamonada: Fornicata) ve světelném mikroskopu; G= ventrální rýha; upraveno podle: Park et al., 2009

Levý mikrotubulární kořen (R2) směřuje doleva do zadní části buňky a postupně se rozšiřuje. Nedaleko distálního konce B1 se u typických exkavát R2 rozděluje na vnitřní část (iR2) a vnější část (oR2). IR2 a oR2 jsou vůči sobě orientovány kolmo. IR2 se táhne u levé strany ventrální rýhy, oR2 vyztužuje vnitřek levé strany ventrální rýhy (Simpson & Patterson, 2001). Výjimkou jsou zástupci podkmene Tetramitida kmene Heterolobosea, u nichž většinou došlo ke ztrátě R1 a R2 podpírá obě strany ventrální rýhy (viz níže), další výjimkou jsou diplomonády, které R2 mají, ale nerozdělený (viz níže).

„Singlet root“ je kořen obvykle složený z jediného mikrotubulu, začíná u R1 a B1 a táhne se směrem dozadu spodkem břišní rýhy (viz Obr. č. 2) (Simpson, 2003).

S B2 je asociovaný přední kořen (R3). R3 zpočátku směřuje k pravé straně buňky, postupně se stáčí do zadní části přímo pod buněčnou membránu, kde se přibližuje k pravému kořeni (R1). R3 chybí z typicky exkavátních skupin u Heterolobosea. Z B2 vybíhá dorzální vějíř mikrotubulů, které se od sebe oddělují a podpírají dorzální a laterální strany buňky (Simpson & Patterson, 2001; Lara et al, 2006; Yubuki et al., 2007).

I fibrila je nemikrotubulární struktura, která přiléhá na předním konci k ventrální straně kořene R2 (Simpson, 2003) a stáčí se souběžně s R2. I fibrila a R2 jsou spojeny podpěrami, které jsou viditelnější u *Carpodiemonas membranifera* než u ostatních exkavátních taxonů (Simpson & Patterson, 1999; O'Kelly & Nerad, 1999). I fibrila u jakobidů či u *Carpodiemonas* je tenká dvouvrstevná struktura (viz Obr. 2; Simpson & Patterson, 1999; Simpson & Patterson, 2001), ale například u *Dysnectes brevis* (Fornicata) vyrůstá jako široký list, který se táhne po celé délce R2, a v místech, kde se R2 rozvětňuje, se I fibrila zužuje a zakrývá pouze levou část R2 (Yubuki et al., 2007). A fibrila je ve spojení s levým kořenem a vyskytuje se u všech typických exkavát až na retortamonády, diplomonády a Heterolobosea. A fibrila vychází mezi bazálními tělísky, táhne se podél dorzální části B1, vyztužuje počátek C fibrily a pokračuje směrem k R2 (Simpson & Patterson, 2001). B fibrila je dlouhý nemikrotubulární pás, který má svůj počátek u R2, výjimkou jsou „*Carpodiemonas-like*“ organismy, u kterých B fibrila začíná u R1. B fibrila se obloukovitě prohýbá a vyztužuje levou ventrální část břišní rýhy. Zpočátku se táhne na ventrální straně B2, poté se výrazně rozšiřuje, běží do zadní části buňky a je v blízké asociaci s oR2 (viz Obr. 1; Simpson & Patterson, 1999). Jedná se o žíhanou strukturu, která se vyskytuje ve všech exkavátních taxonech s výjimkou retortamonád, diplomonád a Heterolobosea (Simpson et al., 2002), poprvé byla popsána u *Jakoba libera* (Patterson, 1990).

Jedna z rolí cytoskeletu asociovaného s B1 je vyztužení ventrální rýhy. Část rýhy, která je nejvíce nalevo je vyztužena pomocí „singlet root“, iR2 a několika dalšími

mikrotubuly. Směrem ke spodní části ventrální rýhy I fibrila a B fibrila postupně mizí, pravý okraj rýhy náhle končí a mikrotubuly podporující levý okraj také končí. Zbylé mikrotubuly jsou doplněny nemikrotubulární strukturou „composite fibre“= CF, která podporuje levý okraj rýhy a zadní konec buňky (Mylnikov & Mylnikov 2014; Lara et al., 2006; Simpson, 2017a).

5. Představení jednotlivých linií neexkavátních exkavát a jejich ultrastruktury

Ve své práci se budu zabývat skupinami, které mají alespoň některé neexkavátní zástupce (viz Tab. 1). Pojdu i o Tsukubamonadida, kteří sice exkavátní rýhu mají, ale je výrazně modifikovaná (viz níže).

Tabulka č. 1 přítomnost/ nepřítomnost exkavátních znaků u linií s neexkavátními zástupci 1- Diplomonadida, 2- Caviomonadidae, 3-Parabasalia, 4- Oxymonadida, 5- Euglenozoa, 6- Heterolobosea, 7- Tsukubamonadida; ✓= znak je přítomen u všech zástupců, ×= znak není přítomen u žádného zástupce ✓×= znak je přítomen jen u některých zástupců, ? = přítomnost znaku je sporná

exkavátní znaky	1	2	3	4	5	6	7
ventrální rýha	✓ ×	×	×	×	×	✓ ×	✓
kořen R2	✓	?	×	✓	✓	✓	✓
rozdvojený kořen R2	×	×	×	×	×	✓ ×	✓
kořen R1	✓	?	×	✓	✓	✓ ×	×
I fibrila	✓	×	×	✓	×	✓ ×	✓
B fibrila	×	×	×	✓	×	?	✓
C fibrila	×	×	?	✓	×	✓ ×	×
A fibrila	×	×	×	×	×	?	✓
"singlet root"	?	×	×	✓	×	×	✓
složená fibrila	×	×	×	×	×	×	×
ploutvičky na bičíku	✓ ×	×	×	×	×	✓ ×	×

5.1. Metamonada

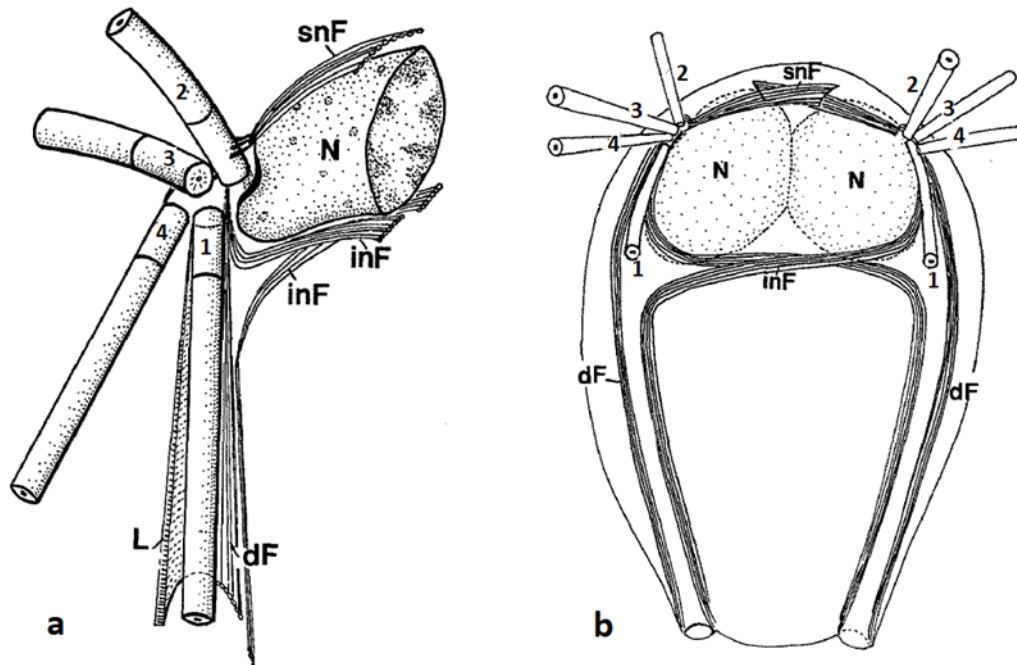
Metamonada je velká skupina anaerobních prvoků a téměř všichni zástupci jsou bičíkovci (Simpson, 2017b). Do této skupiny patří typičtí exkaváti, jako jsou například *Trimastix* a *Paratrimastix* z podskupiny Preaxostyla (O'Kelly et al., 1999), *Carpediemonas membranifera* (Simpson & Patterson, 1999), *Kipferlia bialata* (Yubuki et al., 2013b), *Dysnectes brevis* (Yubuki et al., 2007) nebo *Chilomastix cuspidata* (Bernard et al., 1997) ze skupiny Fornicata, ale především se mezi Metamonada řadí neexkavátní exkaváta.

5.1.1. Diplomonadida

Diplomonády jsou anaerobní bičíkovci, kteří obvykle mají zdvojené buňky, kdy každá polovina je opatřena jádrem a bičíkovým aparátem (diplozoické diplomonády). Známe však i zástupce jen s jedním jádrem a bičíkovým aparátem, jako jsou například *Enteromonas* a *Trimitus* (unizoické diplomonády). Diplomonadida se dělí do dvou podskupin, Hexamitinae a Giardiinae (Adam, 2017). Zástupci Giardiinae (*Giardia*, *Brugerolleia*, *Octomitus*) ventrální rýhu nemají a jsou neexkavátní. Zástupci Hexamitinae (např. *Hexamita*, *Trepomonas*, *Spiroucleus*, *Enteromonas*, *Trimitus*) sice ventrální rýhu mají, ta je ale u nich modifikovaná v trubici či bičíkovou kapsu (Sterud, 1998), a proto jejich cytoskelet níže popisují, přestože jsou exkavátní.

Diplomonády nesou v rámci jedné kinetidy obvykle dva páry bazálních tělísek, ze kterých vyrůstají čtyři bičíky, z nichž je jeden zpětný. Diplozoické diplomonády mají kinetidy dvě. Výjimkou je například unizoický *Trimitus* (Reyes, 1964), který má dva přední bičíky a jeden zpětný bičík. Dalšími výjimkami je rod *Trigonomonas*, který má dvě kinetidy a každá kinetida je opatřena dvěma bičíky (Marx, 1927) a rod *Gyromonas*, který je také opatřen dvěma kinetidami a na každé jsou dva bičíky (Poyon & Streud, 2002). Bazální tělíska leží většinou v přední části buňky, ale například u *Trepomonas* leží u zúženého zadního konce levého jádra (Eyden & Vickerman, 1975). U většiny diplomonád bazální tělísko B1, které je umístěno nejvíce vzadu, nese zpětný bičík sloužící ke kormidlování, popřípadě k nahánění potravy (Brugerolle et al., 1980; Streud, 1998), B2, které je vepředu buňky spolu s B3 a B4 nesou přední bičíky (viz Obr. 3) (Simpson, 2003; Yubuki et al., 2016). Avšak u *Trepomonas* B1 leží nejvíce vepředu buňky a nese pohybový bičík F1, který se táhne přes přední část cytotomální trubice a míří do boku. Zbylé tři bazální tělíska nesou bičíky, které směřují směrem dozadu přes zadní část cytotomální kapsy (Eyden & Vickerman, 1975). Obecně je

zpětný bičík u exkavátních diplomonád z podčeledi Hexamitinae asociován s kapsou, ve které se táhne cytotom, nebo u neexkavátních zástupců probíhá volně cytoplazmou.



Obrázek č. 3 Rekonstrukce cytoskeletu u Diplomonadida, na příkladu rodu *Hexamita*;
a) rekonstrukce poloviny buňky: #1= bazální tělísko zpětného bičíku; #2= bazální tělísko 2, #3= bazální tělísko 3, #4= bazální tělísko 4, dF= přímá fibrila, inF= infranukleární fibrila, L= denzní lamina v asociaci s cytotomální trubicí, N= jádro, snF= supranukleární fibrila;
b) rekonstrukce buňky se dvěma karyomastigonty: df= přímá fibrila, snF= supranukleární fibrila může překrývat jádro, inF= infranukleární fibrila se kříží s protější inF; upraveno podle: Brugerolle, 1991

Na bazální tělíska jsou připojeny tři hlavní mikrotubulární fibrily, které jsou homologické s kořeny R1, R2 a R3 typických exkavát (viz Obr. 3). Supranukleární fibrila je spojena s B2 a je homologická s R3 (Yubuki et al., 2016), míří do přední části buňky a kryje část jádra. U diplozoických diplomonád (např. *Hexamita*, *Trepomonas*) se dvě protější supranukleární fibrily na vrcholku buňky překřížují kolem předního konce cytotomální trubice, táhnou se před jádrem nebo přes jádro a dále pokračují podél levého okraje cytotomální trubice (Brugerolle et al., 1980; Eyden & Vickerman, 1975). Infranukleární fibrila vychází v blízkosti B2 a táhne se pod jádrem, u *Trepomonas*, *Spironucleus* a *Hexamita* se kříží s protějším vláknem a pokračuje podél trubice. Infranukleární fibrila je homologická s kořenem R1 (Yubuki et al., 2016) a u *Giardiinae* zcela chybí (Desser et al., 1993; Friend, 1966). Třetí, přímá mikrotubulární fibrila, vychází u B2, táhne se dozadu, ze začátku vedle

zpětného bičíků a dále podél trubice, pokud je přítomna (viz Obr. 3). Přímá fibrila je homologická k R2 u ostatních exkavát, ale nerozděluje na dvě větve (Simpson, 2003; Brugerolle, 1991).

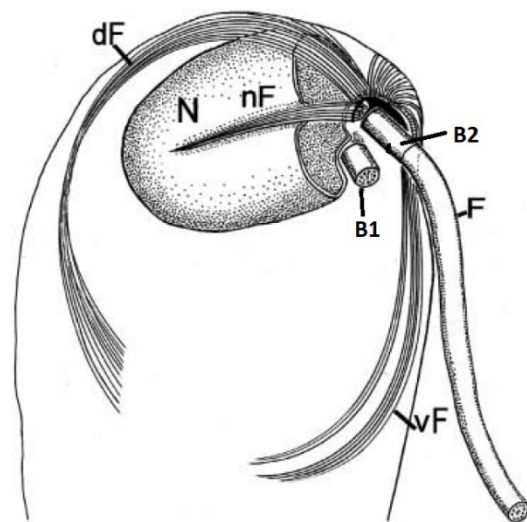
U všech diplomonád se vyskytuje skupina mikrotubulů, která se táhne spolu s hlavními mikrotubulárními kořeny a je možné, že je homologická k „singlet root“ (Simpson, 2003). Tento možný homolog „singlet root“ se vyskytuje u podčeledi *Giardiinae*. K vnější části přímého vlákna například u *Enteromonas* se napojuje struktura podobná I fibrile exkavátních exkavát (Brugerolle, 1975), z podobného materiálu jako I fibrila exkavátních exkavát je také struktura asociovaná s přední částí přímého vlákna u *Spiroucleus* (Brugerolle, 1980).

Buňka zástupců rodu *Giardia* je navíc opatřena unikátním ventrálním diskem, který slouží k přichycení na epitel tenkého střeva. Ventrální adhezivní disk je složen ze spirálních mikrotubulů, které jsou vyztuženy dalšími vlákny (Brugerolle & Müller, 2000). Mikrotubuly ventrálního disku vznikají nedaleko B1 (Brugerolle, 1991).

5.1.2. *Caviomonadidae*

Caviomonadidae je malá skupina organismů, ve které byl původně známý pouze jediný rod *Caviomonas*. Dříve byli zástupci rodu *Caviomonas* považováni za velmi redukované diplomonády, ovšem na základě značně odlišné ultrastruktury byli vyčleněni do samostatné čeledi v rámci fornikát (Cavalier-Smith, 2013; Yubuki et al., 2016c). Mezi *Caviomonadidae* se řadí dva popsané rody endobiotických organismů *Caviomonas* a *Iotanema*, a také dosud formálně nepopsaný, volně žijící mořský organismus prozatímne označovaný jako PCS (Yubuki et al., 2016).

Caviomonas a *Iotanema* mají jednoduchý bičíkový aparát se dvěma nebo čtyřmi bazálními tělísky a postrádají ventrální rýhu, jsou tedy neexkavátní. Přední bazální tělísko B2 nese bičík (F2), na kterém nejsou ploutvičky či jiné struktury, bičík F1 není přítomen a bazální tělísko B1 je holé, což je u exkavát velmi nezvyklé (viz Obr. 4). Cytoskelet *Iotanema spirale* formují tři mikrotubulární kořeny. Dva z nich vyrůstají



Obrázek č. 4 Rekonstrukce bičíkového aparátu *Caviomonas mobilis*; B1= bazální tělísko 1, B2= bazální tělísko 2, dF= dorzální fibrila, F= bičík, N= jádro, nF=nukleární fibrila, vF= ventrální fibrila; upraveno podle: Brugerolle & Regnault, 2001

z přední strany B1 a skládají se asi z 20-40 mikrotubulů, které se od sebe oddělují. Část z nich míří ventrálně a tvoří ventrální fibrilu (vF), druhá část se orientuje dorzálně a tvoří dorzální fibrilu (dF). Zbývající vlákno, nukleární fibrila (nF), běží podél úzké rýhy na povrchu jádra a je zřejmě homologická R1 u exkavátních exkavát, u *C. mobilis* tato homologie nebyla prokázána (Brugerolle & Regnault, 2001). Nukleární fibrila *C. mobilis* je velmi podobná té u *I. spirale*, zde je však napojena na zadní část B2 pomocí spojovací fibrily, dále mívá laterální bazální tělísko a běží stejně jako u *I. spirale* rýhou v jádře (Brugerolle & Regnault, 2001). Nukleární fibrila u *I. spirale* se táhne pod buněčným povrchem rovnoběžně s dorzálním vějířem. Dorzální vějíř mikrotubulů *I. spirale* vzniká z dorzální části B2 (R3 není vyvinut) a běží posteriorně přímo pod buněčným povrchem a pokrývá většinu dorzální části buňky (viz Obr. 4). Dorzální vějíř *I. spirale*, je pravděpodobně homologický s dorzální a ventrální fibrilou u *C. mobilis*. U *I. spirale* se ztratila ventrální rýha a nejspíš i „singlet root“ a mikrotubulární kořen R2 (viz výše), které u exkavátních exkavát vyztužují ventrální rýhu, u *C. mobilis* chybí i kořen R1 (Brugerolle & Regnault, 2001). Další cytoskeletární struktury typických exkavát jako je B fibrila, I fibrila či složená fibrila, se u Caviomonadidae také ztratily (Yubuki et al., 2016c; Brugerolle & Regnault, 2001).

5.1.3. Parabasalia

Anaerobní bičíkovci ze skupiny Parabasalia jsou především obligátní symbionté hmyzu a obratlovců. Některé druhy jsou parazité lidí a zvířat, jako je například *Trichomonas vaginalis*, *Dientamoeba fragilis*, *Tritrichomonas foetus* či *Histomonas meleagridis* (Čepička et al., 2010; Malik et al., 2011). Volně žijící Parabasalia nejsou příliš častá, doposud známe 6 druhů (viz Čepička et al. 2010; Hampl et al., 2004; Yubuki et al. 2010). Dříve se skupina Parabasalia dělila podle počtu bičíků do dvou tříd, a to Trichomonada (trichomonády, 0 až 6 bičíků) a Hypermastigida (brvitky, mnoho bičíků) (Levine et al., 1980), dnes se dělí na základě molekulárně fylogenetických studií a ultrastruktury do osmi řádů. Řády Trichomonadida, Tritrichomonadida a Hypotrichomonadida obsahují pouze trichomonády, Cristamonadida a Honigbergiellida obsahují trichomonády i brvitky a Trichonymphida, Lophomonadida a Spirotrichonymphida obsahují pouze brvitky (Čepička et al., 2017).

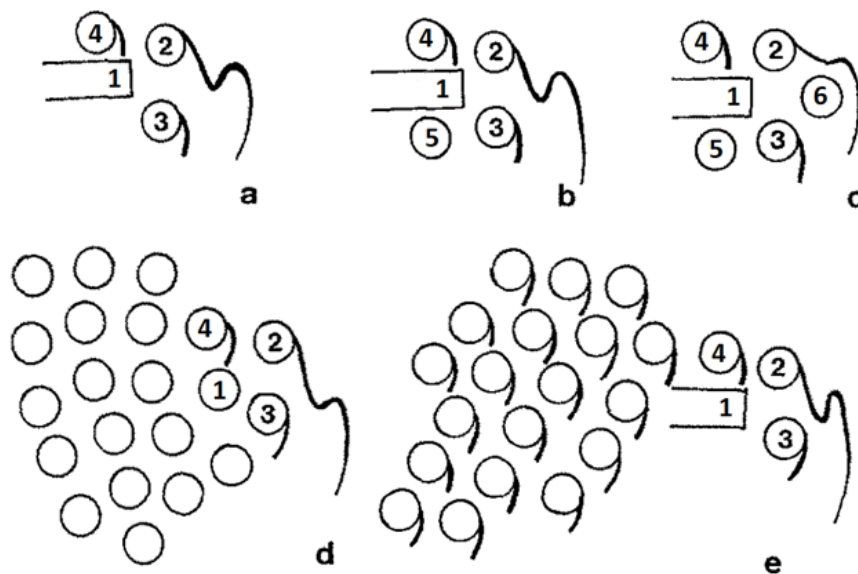
Typické exkavátní struktury jsou u Parabasalia zcela redukovány nebo pozměněny (Simpson, 2003). Hypotetický předek Parabasalia byl nejpíš svým vzhledem i ultrastrukturou typická trichomonáda, jeho bičíkový aparát obsahoval čtyři bazální tělíska a tento stav se zachoval i u řady dnes žijících zástupců (např. *Trichomitus* – Hypotrichomonadida, *Pseudotrichomonas* – Trichomonadida, *Tritrichomonas* – Tritrichomonadida). Tři z nich, B2,

B3 a B4, jsou uspořádány paralelně, směřují dopředu a nesou tři přední bičíky. Bazální tělísko B1 leží v blízkosti B2, B3 a B4, je k nim umístěno kolmo a nese zpětný bičík (viz Obr. 5). B4, B2 a B1 jsou spojeny kořenovými fibrilami F1, F2 a F3 (Honigberg et al., 1971). Historické názvy bazálních tělísek trichomonád jsou ovšem jiné, bazální tělíska předních bičíků se tradičně označovaly jako B1, B2 a B3 a bazální tělísko zpětného bičíku jako R (např. Mattern et al., 1967; Honigberg et al., 1972). Nedávno bylo jejich označení upraveno tak, aby odpovídalo univerzální exkavátní (a eukaryotické) terminologii (Čepička et al., 2017).

Další častý počet bičíků u trichomonád je pět (čtyři přední a jeden zpětný), např. v rodech *Trichomonas*, *Tetratrichomonas* a *Pseudotrypanosoma* (Trichomonadida) nebo u druhu *Tritrichomonas nonconforma* (Tritrichomonadida). Bazální tělísko B5, které nese pátý bičík, leží spolu s B2, B3 a B4 okolo bazálního tělíska zpětného bičíku- B1 (viz Obr. 5) (Brugerolle, 1999; Mehlhorn et al., 2009). U *Pentatrichomonoides* (Trichomonadida) a *Hexamastix* (Honigbergiellida) je bazální tělísko zpětného bičíku v pravém úhlu vůči pěti bazálním tělískům, která nesou přední bičíky (viz Obr. 5) (HAMPL, 2007; Čepička et al., 2017), ale například u *Pentatrichomonas* (Kirby, 1945; Honigberg et al., 1968) či u *Cochlosoma* (Pecka, 1996) (Trichomonadida) je pátý přední bičík oddělený od zbylých čtyř.

Známe i druhy trichomonád, které mají méně než čtyři bičíky, u nich jsou pak základní bazální tělíska holá. Například u *Ditrichomonas honigbergii* (Farmer, 1993), jehož buňky nesou dva přední a jeden zpětný bičík, je B3 bezbičíkaté. *Histomonas melegridis* má pouze jeden bičík, ale čtyři bazální tělíska (Schuster, 1968; Munsch et al., 2009) a *Dientamoeba fragilis* ztratila všechny bičíky (Banik et al., 2012).

Počet bičíků u hypermastigotních buněk narůstá, ale uspořádání základních čtyř bazálních tělísek se nemění (viz Obr. 5), výjimkou jsou Spirotrichonymphida a Trichonymphida. Zástupci skupiny Cristamonadida mají bičíky uspořádány v oblasti přední části buňky a liší se hlavně tvarem této oblasti. Například *Josenina pulchella* má asi 1300 bazálních tělísek uspořádaných v oblasti tvaru trojúhelníku (Brugerolle & Patterson, 2001), *Placojoenia sinaica* má bičíky ve shlucích, které jsou v pravidelných řadách (Radek & Hausmann, 1994) u *Joenoides intermedia* jsou poskládány v bičíkové oblasti do souběžných řad (Brugerolle & Bordereau, 2003). Zástupci kristamonád z rodu *Deltotrichonympha* a *Koruga* mají bičíky v řadách, které se táhnou směrem dolů, mimo bičíkovou oblast v přední části buňky (Tamm & Tamm, 1980). Neobvyklou kristamonádou je *Kofoidia loriculata*, jejíž bičíky jsou ve svazečcích na vrcholu buňky uspořádané do tvaru otevřeného kruhu (Čepička et al., 2017).



Obrázek č. 5 Schéma znázorňuje uspořádání přídavných bazálních tělísek okolo základních bazálních tělísek B1, B2; B3 a B4 a) *Monocercomonas* (*Tritrichomonadida*), b) *Tetratrichomonas* nebo *Trichomonas* (*Trichomonadida*) c) *Hexamastix Honigbergiellida*, d) *Lophomonas* (*Lophomonadida*) e) *Joenia* (*Cristamonadida*); upraveno podle: Brugerolle, 1991

U Trichonymphida jsou bičíky uspořádány do dvou oblastí (řidčeji čtyř), pro které tvoří základní desku parabazální fibrily (viz níže). Tyto desky se setkávají a vytváří charakteristickou rostrální trubici například u *Trichonympha* či u *Pseudotrichonympha* (Carpenter et al., 2009; Gile et al., 2012; Saldarriaga et al., 2011) nebo jsou odděleny cytotoplazmou a na vrcholu každé rostrální desky se nachází jedno, dvě nebo tři „privilegovaná“ bazální tělíska (tedy bazální tělíska, která pravděpodobně odpovídají těm základním z trichomonád) (Čepička et al., 2017). U Spirotrichonymphida chybí pravé rostrum a zmnožené bičíky jsou uspořádány do dvou až šesti spirálovitých řad (Lingle & Salisbury, 1995). Každá řada bičků má na svém vrcholu jedno až tři bazální tělíska, která se dají homologizovat s B2, B3 a B4 u trichomonád, homolog B1 Spirotrichonymphida zřejmě nemají (Brugerolle & Patterson, 2001).

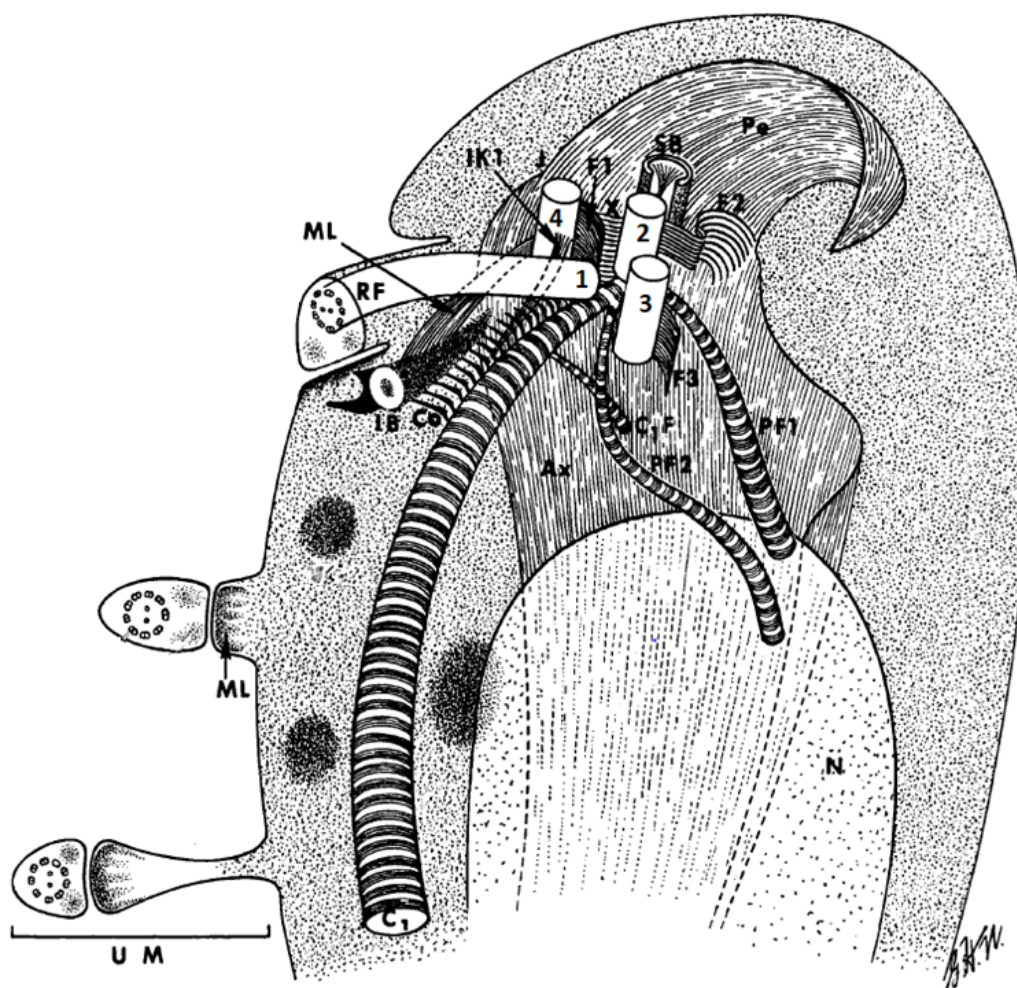
Parabasalia mají velmi dobře vyvinutý cytoskeletární systém. S bazálními tělisky jsou spojeny mikrotubulární struktury – pelta a axostyl – i nemikrotubulární struktury – kosta, parabazální fibrily a další filamenta a lamely (viz Obr. 6) (Kulda et al., 1986).

U Parabasalia jsou cisterny Golgiho aparátu podepřeny příčně pruhovanými kořeny, které jsou napojeny na bazální tělíska. Této struktuře se říká parabazální aparát (Brugerolle & Viscogliosi, 1994). U trichomonád parabazální aparát zahrnuje dvě fibrily (PF1 a PF2), PF1 je

přímo napojeno na B2, PF2 je napojeno na B2 a B1. U větších hypermastigotních buněk velikost a délka parabazálních fibril narůstá nebo se parabazální fibrily rozdělují na víc větví, které podporují Golgiho aparát. Například u *Trichonympha* (Trichonymphida) se rostrum rozděluje asi na dvacet parabazálních vláken (Grimstone & Gibbons, 1966; Brugerolle, 1991). Na bazální tělíska B3 a B4 je ještě napojena krátká hákovitá lamela.

Pelta a axostyl jsou dvě oddělené struktury, které se vzájemně překřížují a jejich mikrotubuly překrývají. Pelta má svůj počátek v místech, kde se kříží s axostylem, což je na úrovni jádra, zakřivuje se směrem doprava a obkružuje oblast bazálních tělísek. Axostyl se táhne od bazálních tělísek předních bičíků, je rozdělen na přední půlkruhovou část (kapitulum), která se zakřivuje kolem jádra a na zadní část (kmen), která má tvar trubky a vynořuje se na zadním konci buňky v podobě různě dlouhého výběžku (viz Obr. 6) (Mattern et al., 1967; Čepička et al., 2017). Vnitřní povrch pelty se v místě překřížení s axostylem napojuje pomocí sigmoidální fibrily bazálního tělíska 2 na fibrilu IK1, která vychází z B4 (Honigberg et al., 1971).

Undulující membrána je vyvinuta u pěti řádů a to Hypotrichomonada, Trichomonadida, Honigbergiellida, Tritrichomonadida a Cristamonadida (zde je modifikována). Undulující membrána představuje dobré řešení pro pohyb ve viskózním prostředí, jako je krev nebo obsah střev (Cepicka et al., 2010). Tvoří ji zpětný bičík, výběžek cytoplasmatické membrány a na její struktuře se také podílí příčně pruhovaná marginální lamela, která vzniká v místech bazálních tělísek. Undulující membrána vzniká na ventrální straně buňky, v místech, kde byla ventrální rýha před tím, než se ztratila. Známe dva typy undulující membrány, první se nazývá lameliforní a vyskytuje se u Trichomonadida (u všech zástupců), Honigbergiellida (pouze u některých zástupců), Hypotrichomonadida (u všech zástupců kromě *Hypotrichomonas imitans*; Céza et al., 2015) a u Tritrichomonadida (zde pouze u rodu *Simplicimonas*; Cepicka et al., 2010). Je tvořena tenkým cytoplazmatickým výběžkem, který je laterálně podepřen zpětným bičíkem. Druhý typ undulující membrány se nazývá „rail-type“ (kolejnicová u. m.) a vyskytuje se u Tritrichomonadida, a to pouze u rodu *Tritrichomonas*. Dále pak u některých zástupců Cristamonadida (např. *Devescovina*) je přítomen homolog kolejnicové undulující membrány, kterou podpírá mikrofibrilární struktura, kresta. Kresta je situovaná pod zpětným bičíkem a napojuje se na marginální lamelu. Zpětný bičík je spojen s distální částí cytoplazmatického výběžku. Kresta není homologická s kostou (Brugerolle & Lee, 2000; Brugerolle, 2000; Brugerolle, 2004).



Obrázek č. 6 Schématické zobrazení cytoskeletárních struktur *Tritrichomonas foetus*, dorzální pohled z mírně pravé strany; #1= bazální tělísko zpětného bičíku, #2 až #4= bazální tělíska předních bičíků, Ax= axostyl, C₁= kosta typu A; Co= hřebenovitá struktura, F1= kořenová fibrila 1, F2= sigmoidální kořenová fibrila 2, F3= kořenová fibrila 3, IB= infrakinetosomální tělísko, IK1= fibrila bazálního tělíska 4, ML= marginální lamela, Pe= pelta, PF1= parabazální fibrila 1, PF2= parabazální fibrila 2, UM= undulující membrána, RF= zpětný bičík, SB= suprakinetosomální tělísko; upraveno podle: Honigberg et al., 1971

Undulující membrána je u Parabasalia obvykle podpořena nemikrotubulární, příčně pruhovanou fibrilou, kostou (viz Obr. 6); u *Hypotrichomonas* (*Hypotrichomonadida*), *Monotrichomonas*, *Ditrichomonas* (*Honigbergiellidae*), *Lacusteria* a *Pseudotrichomonas* (*Trichomonadida*) a četných kristamonád kosta chybí, přestože undulující membrána je vyvinuta (Céza et al., 2015; Farmer 1993; Yubuki et al., 2010). Známe dva typy kasty, A a B, které se liší periodicitou příčného pruhování. Kosta typu A je přítomna u rodů *Trichomitus* (*Hypotrichomonadida*) a u *Tritrichomonas* (*Tritrichomonadida*) (Cepicka et al., 2010). Kosta typu B se nachází pouze u *Trichomonadida*, zde je u většiny rodů. Kosta je zřejmě homologická s C fibrilou exkavátních exkavát (Simpson & Patterson, 2001).

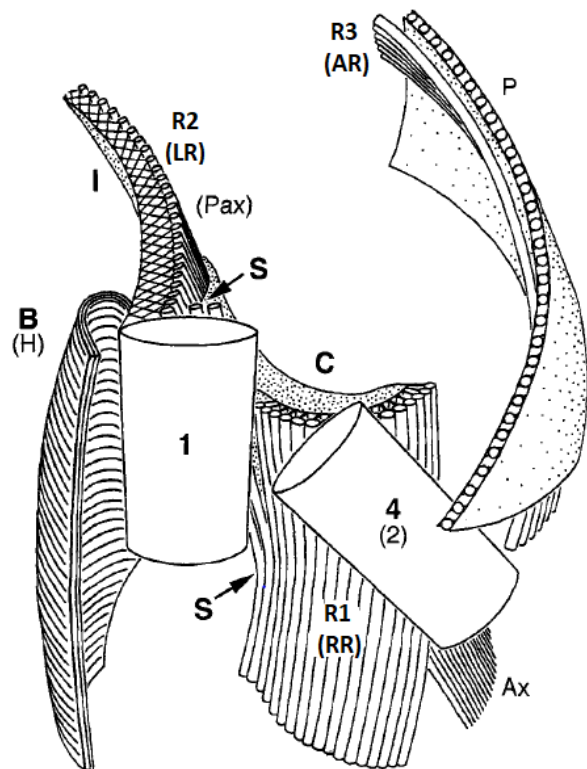
U některých Parabasalia se také vyskytuje hřebenovitá struktura (Co), která vychází

v místech bazálního tělíska zpětného bičíku a kosty. Hřeben se skládá z periodicky žíhaných fibril, které jsou v některých místech zesíleny. Struktura hřebenu je napojena na pravou stranu takzvaného infrakinetosomálního tělíska. Infrakinetosomální tělísko je poměrně velká struktura, která se nachází pod komplexem bazálních tělísek a táhne se dozadu směrem k proximální části undulující membrány (Honigberg et al., 1971). Dále u některých Parabasalia můžeme najít suprakinetosomální tělísko vycházející z B2 (viz Obr. 6). Hřeben se vyskytuje u Hypotrichomonadida, *Tritrichomonas*, *Monocercomonas* a *Simplicimonas* (Tritrichomonadida), infrakinetosomální tělísko u *Simplicimonas*, *Monocercomonas* a *Tritrichomonas* a suprakinetosomální tělísko také u *Tritrichomonas* (Cepicka et al., 2010).

5.1.4. Oxymonadida

Preaxostyla reprezentují jednou ze tří hlavních linií uvnitř Metamonada, skládají se ze tří podskupin: Trimastigidae, Paratrimastigidae a Oxymonadida. Trimastigidae, kteří jsou zastoupeni jedním rodem *Trimastix* a Paratrimastigidae, jenž jsou také zastoupeni jen jedním rodem, *Paratrimastix* jsou typičtí exkaváti (Zhang et al., 2015), zatímco oxymonády jsou neexkavátní a mají mnohem více odvozený cytoskelet, což patrně souvisí s jejich symbiotickým způsobem života. Jsou to organismy žijící ve střevech termitů a jiných bezobratlých živočichů, ale některé druhy *Monocercomonoides* najdeme i u obratlovců (Hampl, 2017; Treitli et al., 2018).

Skupina Oxymonadida zahrnuje více než 140 popsáných druhů a dělí se do pěti čeledí (Polymastigidae, Streblomastigidae, Pyrsonymphidae, Saccinobaculidae a Oxymonadidae (Hampl, 2017) a z typicky exkavátních znaků je u nich zachována I fibrila, B fibrila, C fibrila, R1, R2 a „singlet root“ (Simpson, 2003). Ventrální rýha však chybí, a proto jsou zde oxymonády zahrnuty mezi neexkavátní exkaváty.



Obrázek č. 7 Schéma uspořádání zadní části bičíkového aparátu *Monocercomonoides hausmanni*, pohled z ventrální strany; Ax= axostyl, B= B fibrila, C= C fibrila, I= I fibrila, P= pelta, R1= pravý kořen, R2= levý kořen, R3= dorzální mikrotubulární kořen, S= singlet root; upraveno podle: Simpson et al., 2002

Bičkový aparát oxymonád je složen ze dvou párů bazálních tělísek. Tyto páry jsou spojeny pomocí příčně pruhované struktury zvané preaxostyl (viz níže) (Brugerolle, 1991; Yubuki et al., 2016a). První pár bazálních tělísek tvoří bazální tělísko B1, které nese zpětný bičík, a bazální tělísko B4, jenž nese jeden z předních bičíků. Druhý pár je tvořený bazálním tělískem B3, které leží naproti B1 a bazálním tělískem B2, které leží naproti B4. B3 a B2 nesou přední bičíky (Radek, 1994; Yubuki et al., 2016a). B1 u oxymonád je s největší pravděpodobností homologické s B1 u exkavátních exkavát (Treitli et al., 2018).

Většina zástupců oxymonád má čtyři bičíky, jako jsou například zástupci čeledi Polymastigidae, Streblomastigidae nebo Oxymonadidae; Pyrsonymphidae mají čtyři až osm bičíků, Saccinobaculidae čtyři, osm nebo dvanáct bičíků (Hampl, 2017).

Preaxostyl je plát s kombinovanou ultrastrukturou. Začíná napravo od B1, strana přilehlá k jádru je složena z mikrotubulárních pásů, z nichž některé jsou spojeny s mikrotubuly axostylu (viz níže), zatímco na straně odlehle od jádra tvoří mikrotubuly mřížkovitou strukturu (viz Obr. 7) (Brugerolle & König, 1997). Mikrotubuly preaxostylu jsou pravděpodobně homologické s kořenem R2 typických exkavát, preaxostyl však není rozdvojen (Yubuki et al., 2016a). Mezi B1 a B2, kde se táhne preaxostyl, vybíhají svazky paralelně uspořádaných axostylárních mikrotubulů. Není jasné, zda mikrotubuly axostylu vznikají nově, nebo zda některé z nich nepřecházejí z preaxostylu (Simpson et al., 2002). Každý mikrotubulus axostylu je připojen k sousednímu příčnými můstky. Axostyl oxymonád je na rozdíl od axostylu trichomonád (Parabasalia) kontraktilní. Jeho mikrotubuly se navzájem aktivně posouvají, což má za důsledek ohyb, který způsobuje kroutivý pohyb buňky (Simpson & Čepicka, 2019). Axostyl se táhne podél dorzální strany jádra směrem do zadní části buňky (viz Obr. 7; Radek, 1994). Parakrystalinní část preaxostylu oxymonád zřejmě odpovídá I fibrile exkavátních exkavát (Simpson et al., 2002; Yubuki et al., 2016a), a to proto, že obě tyto struktury přiléhají k ventrální straně R2 (Simpson et al., 2002). U *Oxymonas* v oblasti bičíků je na buněčném povrchu zóna, kde se napojují dlouhé spirochety. V této oblasti pod cytoplasmatickou membránou *Oxymonas* se nachází denzní plát, který sousedí s preaxostylem a je také místem, kde se sbíhá malý soubor mikrotubulů (Brugerolle & König, 1997).

Pro Oxymonadidae je charakteristické takzvané rostelum, mikrofibrilární struktura, pomocí které se přichycují na stěnu střeva. V některých případech může být rostelum mnohem delší než buňka. Rostelum je složené ze dvou hlavních mikrotubulárních svazků. První ze svazků vzniká v místě přichycování a je složen ze spletitých mikrotubulárních pásů, které se táhnou celou délkou rostela a pokračují stranou buněčného těla. Druhý svazek je složen z klikaticích se volných mikrotubulů, které vznikají v axiálních oblastech rostela

a táhne se dozadu. Na úrovni bičíku se mikrotubuly rostela inkorporují do mikrotubulárních řad axostylu (Brugerolle & König, 1997). Rostelum se také vyskytuje u druhu *Streblomastix strix* (Streblomastigidae), který jej dokáže prodloužit a zatáhnout. Slouží stejně jako u Oxymonadidae pro přichycení k epitelu střeva (Leander & Keeling, 2004; Hampl, 2017).

Homolog exkavátní B fibrily se u oxymonád nazývá H fibrila. Tato nemikrotubulární struktura vychází z vnitřní strany preaxostylu, má tvar širokého plátu a je žíhaná se stejnou periodou jako B fibrila u exkavátních exkavát (viz Obr. 7; Simpson et al., 2002).

Mikrotubulární kořen 1 (R1) vybíhá mezi B1 a B4, běží souběžně se zpětným bičíkem pod buněčnou membránou (Simpson et al., 2002; Treitli et al., 2018). Mikrotubulární kořen 3 (R3) vybíhá u B4, stáčí se a táhne se přímo pod peltou (viz Obr. 7). Dá se homologizovat s předním kořenem (R3) exkavátních exkavát. Pelta je struktura, která vyztužuje buněčnou membránu na přední straně buňky, je v těsné blízkosti R3 (viz Obr. 7) a dá se homologizovat s dorzálním vějířem mikrotubulů, který vyztužuje dorzální stranu buňky exkavátních exkavát (Simpson et al., 2002). Skládá se z jednoho plátu mikrotubulů a vychází u B1, postupně se rozšiřuje a běží směrem k B2 a B3, které obkružuje a táhne se dál pravou dorzální stranou buňky a vytváří „pokrývku“ jádra. Pelta končí na okraji preaxostylu (Radek, 1994; Simpson et al., 2002).

Další struktura oxymonád, která má svůj homolog u typických exkavát je „singlet root“ (Treitli et al., 2018). „Singlet root“ oxymonád a typických exkavát se shoduje polohou vůči ostatním komponentům v buňce, jen u oxymonád je tato struktura tvořena většinou dvěma mikrotubuly, zatímco u typických exkavát pouze jedním. „Singlet root“ oxymonád vyztužuje část levé stěny buňky (Simpson et al., 2002; Treitli et al., 2018).

5.2. Discoba

5.2.1. Euglenozoa

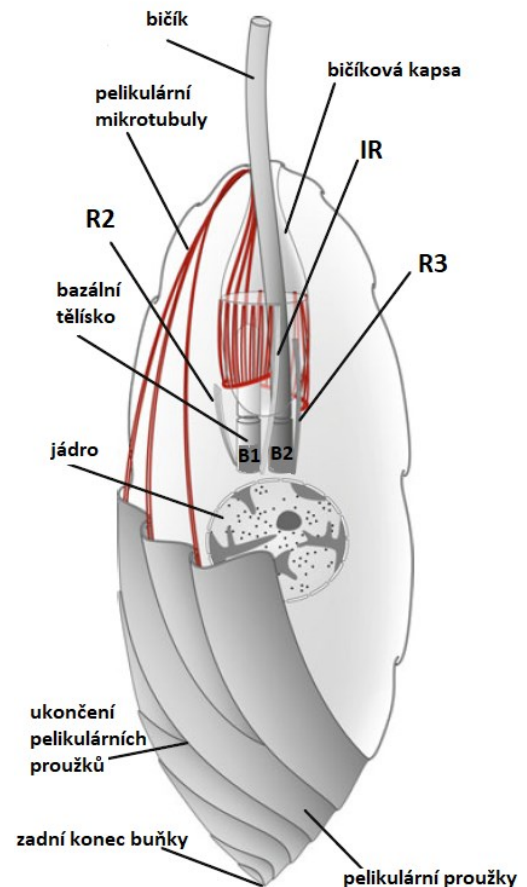
Euglenozoa je druhově nejbohatší skupina taxonu Excavata, ale i přes svou druhovou bohatost mají jejich zástupci poměrně málo variabilní bičíkový aparát. Dělí se na čtyři podskupiny: Euglenida, Kinetoplastea, Diplonemea a Symbiontida (Adl et al., 2019).

Euglenida představují skupinu volně žijících bičíkovců, která sčítá více než 1500 popsáných druhů. Zástupci této skupiny se živí nejrůznějšími způsoby, známe fagotrofní, osmotrofní i fotoautotrofní druhy. Kinetoplastea představují důležitou skupinu volně žijících a parazitických bičíkovců. Diplonemea jsou heterotrofní bičíkovci patřící mezi druhově nejpočetnější protisty moří (David & Archibald, 2016). Symbiontida je nedávno vytvořená

podskupina kmene Euglenozoa a její zástupci se vyznačují tím, že jsou anaerobní a mají na svém povrchu ektosymbionty (Yubuki et al., 2013c).

U Euglenozoa se zcela ztratila exkavátní ventrální rýha, jsou to tedy neexkavátní exkaváti (Simpson, 2003). Bičíkový aparát se většinou skládá ze dvou bazálních tělísek, která jsou vůči sobě orientovaná paralelně. Z každého bazálního tělíska vyrůstá jeden bičík, které se pak společně vynořují z bičíkové kapsy. U některých rodů, jako je *Euglena*, *Trachelomonas*, *Cyclidiopsis*, *Trachelomonas*, *Colacium*, *Phacus* a další (Leedale & Vickerman, 2000), vyrůstá z buňky pouze jeden bičík a druhý je tak krátký, že se nevynořuje z bičíkové kapsy. Výjimkou jsou Trypanosomatidae s jedním bičíkem a zástupce Euglenida-*Scytomonas* (Cavalier-Smith, 2016), který má jeden bičík i jedno bazální tělísko, naopak někteří zástupci rodu *Eutreptiales* mají bičíky čtyři (Leander et al., 2017). Charakteristický znak pro Euglenozoa je vlášení na bičíku, může však i chybět, a to například u zástupců Symbiontida (Yubuki et al., 2009) či u Trypanosomatida, Parabodonida nebo u Neobodonida (Kinetoplastea) (Moreira, 2004). Eubodonida (Kinetoplastida) mají vlášení na zpětném bičíku (Moreira et al., 2004), u skupiny Diplonemea jsou vlásky na obou bičících (Linton & Trimer, 2001). Jednobičíkatí Euglenida například *Peranema*, *Phacus* a další, jsou vlásky na bičíku také opatřeni (Hilenski & Walne, 1985; Dynesius & Walne, 1975), stejně tak, jako zástupci rodu *Eutreptia* (Euglenida) (Dawson & Walne, 1991; Trimer & Lewandowski, 1994). Bičíkové vlášení typicky směřuje tak, že distální konec vlásků míří k distálnímu konci bičíku.

Přední bičík euglenozoi, který vyrůstá z B2 (viz Obr. 8), je podpořen úzkou a nestrukturovanou paraxonemální tyčí a zadní bičík, který vyrůstá z B1, nese mohutnou parakrystalinní paraxonemální tyč (Brugerolle, 1992). Bazální tělíska jsou asociována s třemi mikrotubulárními kořeny. B1 je asociováno s ventrálním mikrotubulárním kořenem (VR = R2) a s intermediárním kořenem (IR = R1). Ventrální kořen je pravděpodobně homologický k R2 u typických exkavát a spolu s mikrotubuly vyztužuje aparát, kterým někteří zástupci



Obrázek č. 8 Obecné ultrastrukturní znaky u euglenid, upraveno podle: Yubuki & Leander, 2011

kmene Euglenozoa přijímají potravu. Intermediární kořen leží mezi dvěma bazálními tělísky, ale je napojen pouze na B1. Intermediární kořen se dá homologizovat s R1 u typických exkavát. Dorzální bazální tělísko B2 je asociováno s dorzálním kořenem (DR= R3) (viz Obr. 8), který se dá homologizovat s R3 exkavátních exkavát. (Farmer & Trimer 1987; Simpson, 2002; Simpson, 2003; Yubuki et al., 2016a).

Čtyřbičíkatí zástupci Euglenozoa (např. *Eutreptiella*) mají bazální tělíska uspořádána do dvou párů. Dva bičíky, které směřují ventrálně, jsou přibližně stejně dlouhé jako buňka a dva tenčí bičíky, které směřují dorzálně, jsou přibližně o polovinu kratší. Každý bičík je opatřen vlásky. Všechny čtyři bičíky jsou podepřeny paraxonemální tyčí. Často se u čtyřbičíkatých zástupců v zadní části bičíkového aparátu vyskytují čtyři holá bazální tělíska, pokud jsou přítomna, sousedí s bičíkatými bazálními tělísky. Mikrotubulární struktury, jako je intermediární kořen, ventrální kořen a dorsální kořen, jsou zdvojeny. Mikrotubuly VR1 tvoří vyztužený mikrotubulární svazek neboli kapsu (MTR) (tento termín se používá pro popis podobné struktury u kinetoplastid). Tato MTR kapsa slouží k přijímání potravy (Trimer & Lewandowski, 1994; Farmer & Trimer, 1988). Ventrální kořen (R2) u kinetoplastid tvoří, stejně jako u čtyřbičíkatých euglenid, MTR kapsu.

Parazitické trypanosomy mají značně redukovaný bičíkový aparát, skládá se pouze z jednoho bičíku, který vyrůstá z B2. B1 je redukované a nazývá se protobazální tělísko. Všechny elementy, které jsou jinak asociovány s B1, u trypanosom chybí. R3 je asociován s B2 a formuje mikrotubulární kvartet (MTQ). Konkrétně u *Trypanosoma brucei* se ukázalo, že má charakteristickou vlásenkovou dvoulaločnou strukturu, které je ve spojení s MTQ a omotává se kolem bičíkové kapsy (Yubuki et al., 2016a). Usuzuje se, že podobná cytoskeletární struktura pMTOC („pellicle microtubules organizing centre“) hraje důležitou roli v uspořádání pelikulárních proužků u euglenid. Pelikula euglenid tvoří mikrotubulární kostru povrchu buňky umístěnou pod systémem proteinových spirálovitých proužků, pMTOC obkružuje zadní konec bičíkové kapsy a vyztužuje mikrotubuly, které se táhnou pod proužky pelikuly. Je možné, že pMTOC je homologické s dvoulaločnou strukturou trypanosom, a tím pádem byla přítomna už u posledního společného předka Euglenozoa (Yubuki & Leander, 2012; Yubuki et al., 2016a).

5.2.2. *Heterolobosea*

Heterolobosea je skupina améb, améboflagelátů a bičíkovců, která sčítá zhruba 150 popsaných druhů. Její zástupci se živí heterotrofně a téměř všichni jsou volně žijící, ale známé jsou i endobiotické druhy a fakultativní patogeni lidí a zvířat (např. některé druhy rodu

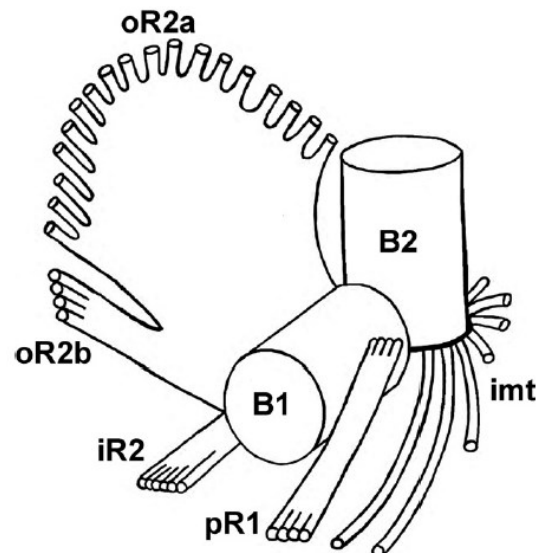
Negleria, *Paravahlkampfia francinae*) (Brugerolle & Simpson, 2004; Visvesvara et al., 2007, 2009). Heterolobosea se dělí do dvou podkmenů, Pharyngomonada a Tetramitia (Pánek et al., 2017).

Většina zástupců Heterolobosea má buď dva (*Heteramoeba*, *Euplaesiobystra*, *Pleurostomum*, *Dactylomonas* atd.) nebo čtyři bičíky (*Psalteriomonas*, *Percolomonas*, *Pharyngomonas*, *Tetramastigamoeba* atd.). Neobvyklý je rod *Stephanopogon*, jehož zástupci jsou opatřeni několika podélnými řadami bičíků a původně byli popsáni jako nálevníci (Yubuki & Leander, 2008). Dalším neobvyklým zástupcem je druh *Creneis carolina*, který ve svém hlavním životním stádiu nese pouze jeden přední bičík (Pánek et al., 2014).

U čtyřbičíkatých zástupců jsou bazální tělíska uspořádána do dvou párů, B1 a B4 tvoří přední pár, B2 spolu s B3 tvoří zadní pár. Páry bazálních tělísek jsou propojeny krátkými mikrotubulárními svazky a této organizaci bičíkového aparátu se říká „double bikont“.

Uspořádání bazálních tělísek v jednotlivých párech může být kolmé (*Pharyngomonas kirbyi*), paralelní nebo téměř paralelní (ostatní Heterolobosea) a uspořádání párů k sobě navzájem může být ortogonální (např. *Tetramitus rostratus*), v tandemu (např. *Percolomonas descissus*) nebo vedle sebe (*Pharyngomonas kirbyi*, *Percolomonas sulcatus*) (Brugerolle & Simpson, 2004; Park & Simpson 2011). Z přední strany B3 vyrůstá mnoho periferních mikrotubulů, které zpočátku vyztužují rostrum u *Tetramitus rostratus* a *Pleurostomum flabellatum*.

U většiny zástupců Heterolobosea se zachovala ventrální rýha, vyztužená pomocí rozděleného kořene R2, jsou tedy exkavátní, ale u některých zástupců došlo ke ztrátě rýhy a takoví zástupci jsou neexkavátní. Z exkavátních elementů se zachovala ještě I fibrila. R1 a ostatní typicky exkavátní struktury u Heterolobosea obvykle chybí, ale existují i výjimky (Simpson, 2003; Brugerolle & Simpson, 2004). První z výjimek je rod *Pharyngomonas* vyčleňovaný do samostatného podkmene Pharyngomonada. Zde je zachován kořen R1 a je ve spojení s nemikrotubulární C fibrilou. Další výjimkou je rod *Dactylomonas*, který má také R1 (viz Obr. 9). R1 vychází u B1 a táhne se do zadní části



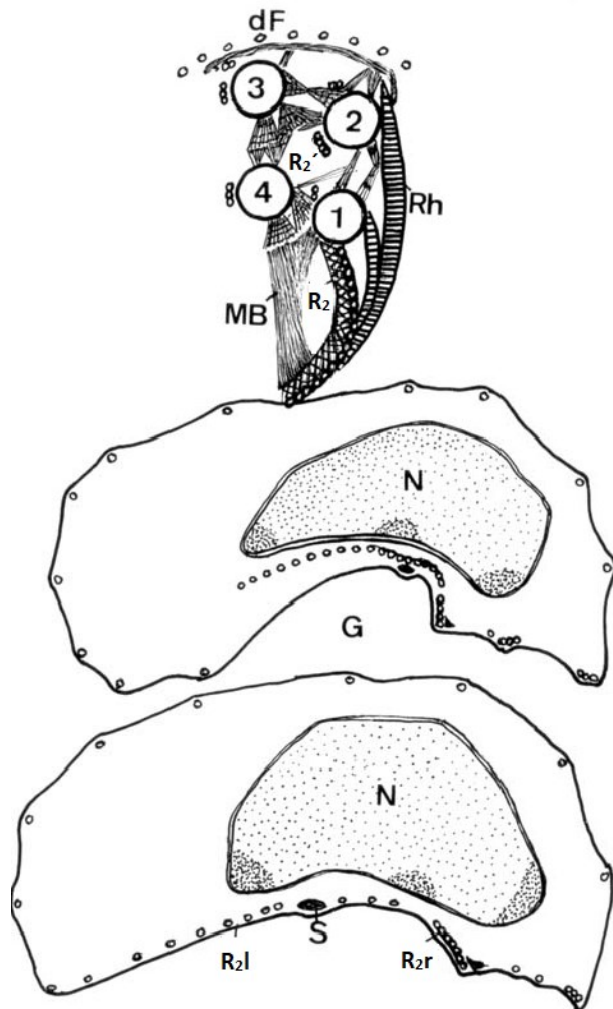
Obrázek č. 9 Rekonstrukce přední části buňky zástupce Heterolobosea *Dactylomonas venusta*; B1= bazální tělísko 1, B2= bazální tělísko 2, iR2= vnitřní část R2, oR2a= pravá vnější část R2, oR2b= levá část vnější části R2, pR1= kořen R1; upraveno podle: Hanousková et al., 2018

buňky. C fibrila u *Dactylomonas* pozorována nebyla (Hanousková et al., 2018). Poslední výjimkou je druh *Creneis carolina*, který má pouze jedno bazální tělísko, ze kterého vychází kromě ostatních struktur i fibrila zřejmě homologická kořeni R1 (Pánek et al., 2014).

Ostatní Heterolobosea mají jeden hlavní mikrotubulární kořen R2, který vzniká v asociaci s pravou stranou B1. R2 je ve spojení s příčně pruhovaným rhizoplastem, jenž vzniká na pravé straně bazálních tělísek, převážně na pravé straně B1 (viz Obr. 10) (Park et al., 2007). Struktura rhizoplastu se napříč skupinou Heterolobosea mění. Nejčastěji se rhizoplast vyskytuje jako samostatný systém, který se rozvětňuje a propojuje B1 s B2 (např. *Naegleria* nebo *Harpagon*). Známe i zástupce se dvěma oddělenými rhizoplasty, každý pro jeden pár bičíků a R1 (*Percolomonas sulcatus*) (Brugerolle & Simpson, 2004) nebo komplex rhizoplastů (*Tetramitus rostratus*) (Balamuth et al., 1983). Na konkávní straně je R2 asociován s I fibrilou. Mezi zadními bazálními tělísky se táhne tlustý svazek mikrotubulů (MB) a část R2, další svazek mikrotubulů (R_2') vychází ze zadní strany B2. Dorzální a laterální stranu buňky vyztužuje vějíř mikrotubulů (dF), který vychází v zadní části buňky. Na ventrální straně buňky se R2 rozděluje na levou část (R_{2l}), která podporuje levou stranu rýhy a na větší pravou část (R_{2r}), která podporuje pravou stranu rýhy. V asociaci s R_{2r} , v přední části ventrální rýhy, vzniká příčně pruhované mikrofibrilární vlákno (S). Postupem, když se rýha rozšiřuje R_{1l} a R_{1r} se vzájemně oddalují, ale následně se znovu sblíží u zadního konce buňky. Dno rýhy je vyztuženo oddělenými mikrotubuly, z nichž většina vzniká v asociaci s mikrofibrilárním vláknem (S), některé z nich také vznikají z R_{2l} (viz Obr. 10) (Brugerolle & Simpson, 2004).

Většina zástupců Heterolobosea nese čtyři bičíky asociované s bazálními tělísky. Bazální tělíska B1, B2 a B3 jsou spojeny příčně pruhovaným komplexem rhizoplastů. Hlavní rhizoplast sestupuje pod ventrální rýhou a míří směrem dozadu k jícnu. Jícen je invaginovaná část ventrální rýhy, je umístěný vedle jádra a podepřený mikrotubuly. Rhizoplast se na konci rozděluje v několik samostatných vláken, které nejspíš vyztužují stěnu jícnu. Další strukturou bičíkového aparátu rodu *Tetramitus* jsou mikrotubulární svazky vyrůstající z pravé strany B2 a zezadu z B3. Mikrotubuly se rozptylují směrem k cytoplazmatické membráně a každý svazek mikrotubulů běží pod cytoplazmatickou membránou k opačným stranám ventrální drážky. Mikrotubulární svazek z B2 se stáčí kolem rostra a sestupuje podél pravé strany ventrální rýhy. Mikrotubulární svazek z B3 se stáčí přes ventrální rýhu k jejímu přednímu okraji, kde sestupuje podél její levé strany (Balamuth et al., 1983).

Rhizoplast Heterolobosea je svou pozicí podobný A fibrile, která se vyskytuje u některých typických exkavát a je možné, že si jsou homologické. Stejně tak mikrofibrilární provazec (S) *Percolomonas* či *Psalteriomonas* se podobá typicky exkavátní B fibrile (Pánek et al., 2012, Brugerolle & Simpson, 2004).



Obrázek č. 10 Příčný průřez bazálními tělisky a přední částí ventrální rýhy u zástupce Heterolobosea *Percolomonas descissus*; #1= B1, #2= B2, #3= B3, #4= B4, dF= vějíř mikrotubulů, G= ventrální rýha, MB= tlustý svazek mikrotubulů, N= jádro, Rh= rhizoplast, R2= mikrotubulární kořen 2, R2'= svazek mikrotubulů, R2l= levá část kořene R2, R2r= pravá část kořene R2, S= mikrofibrilární vlákno; upraveno podle: Brugerolle & Simpson (2004)

Mezi Heterolobosea najdeme i zástupce s neobvyklým bičíkovým aparátem. Příkladem může být rod *Tetramitus* (Tetramitia). Zástupci rodu *Tetramitus* se liší tím, že nesou dva kořeny R2, kterými je podepřena ventrální rýha (Brugerolle & Simpson, 2004). U *Pleurostomum* (Tulamoebidae, Tetramitia) ventrální rýhu podporuje rozdvojený kořen R2, jehož mikrotubuly vychází z rostra, což není obvyklé (Kirby et al., 2015; Park et al., 2015). Rod *Naegleria* má ventrální rýhu velmi redukovanou. Hlavní aktivní stádium druhu *N. gruberi* je améba, která nemá bičíky, bazální těliska ani mikrotubuly. Stádium bičíkovce je dočasné, bičíkovec *Naegleria* nemá cytostom, většinou nese dva bičíky, jejich R2 se nerozdvojuje a může vyztužovat ventrální rýhu zakončenou jícnem, která je ovšem velmi málo zřetelná (Brugerolle & Simpson, 2004; Panek & Cepicka, 2012). V rámci Tetramitia

jsou zástupci s exkavátní ventrální rýhou, ale i bez ní. Ventrální rýhu mají rody *Harpagon* (Psalteriomonadidae), *Pseudoharpagon* (Psalteriomonadidae), *Percolomonas* (Percolomonadidae), *Psalteriomonas* (Psalteriomonadidae), *Pharyngomonas* (Pharyngomonada) (Pánek et al., 2012).

U některých skupin kmene Heterolobosea došlo k úplné ztrátě bičíkového aparátu a staly se z nich měňavky, jsou tudíž neexkavátní. Mezi takové zástupce patří například *Sawyeria*, *Psalteriomonas laterna*, *P. magna*, *Monopylocystis anaerobica* (Psalteriomonadidae, Tetramitida) (O'Kelly et al., 2003; Panek et al., 2012; Smirnov & Fenchel, 1996) nebo zástupci rodu *Vahlkampfia*, *Paravahlkampfia* či *Neovahlkampfia* (Brown & De Jonckheere, 1999).

Další zástupci, kteří jsou velmi odlišní svým cytoskeletem od ostatních heterolobózních bičíkovců jsou zástupci rodu *Stephanopogon*, kteří mají více než sto bičíků a ve světelném mikroskopu připomínají nálevníky (Patterson & Brugerolle, 1988; Lee et al., 2014). *Stephanopogon* má velmi krátká bazální tělíska, která jsou obkroužena komplexem elektrodenního materiálu a z nich vychází bičíky. Bičíky leží v jakýchsi prohlubních a jsou uspořádány do podélných řad. Jednotlivé řady bičíkových drážek jsou vyztuženy mikrotubuly. Na ventrální straně buňky je více než sto bičíků, zatímco na dorzální okolo třinácti (Yubuki & Leander, 2008).

Cytoskeletární systém *Creneis carolina* (Creneidae, Tetramitida) je také odvozený. *C. carolina* má velmi atypicky uspořádaný bičíkový aparát, nemá ventrální rýhu a její R2, ale pravděpodobně i celý bičíkový aparát je chirálně obrácený ve vztahu k bičíku, než je to u eukaryot běžné. R1 a R2 jsou zrcadlově obráceny vůči těmto strukturám u ostatních exkavát. *Creneis carolina* je jediný známý zástupce Heterolobosea, který si udržuje bičík i ve stádiu améby (Pánek et al., 2014).

5.2.3. *Tsukubamonadida*

Tsukubamonadida je poměrně nedávno objevená skupina volně žijících heterotrofních bičíkovců, která se řadí mezi Discoba. Reprezentuje ji pouze jeden popsáný zástupce, a to je *Tsukubamonas globosa* (Adl et al., 2019; Yabuki et al., 2011).

Buňka *Tsukubamonas globosa* má čtyři bazální tělíska, dvě z nich jsou opatřena bičíky a dvě nejsou. Přední (AB= B2) a zadní (PB= B1) bazální tělísko jsou vůči sobě v tupém úhlu a jsou asociovány s předním a se zpětným bičíkem. Bazální tělíska 3 a 4 (B3, B4), která bičíky nenesou, jsou umístěna na levé ventrální straně od B2 a B1 bazálního tělíska (viz Obr. 11).

T. globosa s exkavátními exkaváty sdílí všechny charakteristické znaky až na C fibrilu, ploutvičky na bičíku, „composite fiber“ a R1. U buněk *T. globosa* byla pozorována nevýrazná rýha na ventrální straně, což naznačuje, že *T. globosa* během pohlcování bakterií vytváří dočasnou rýhu, která je vyztužena mikrotubuly. Ventrální rýha však není stálá, a proto zde *T. globosa* řadíme mezi neexkavátní exkaváty.

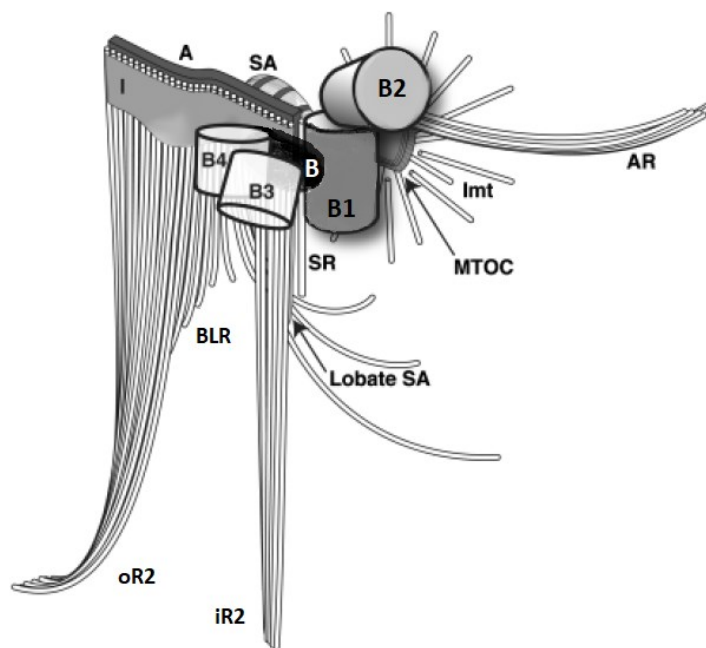
Tři hlavní mikrotubulární kořeny jsou spojeny s bičíkatými bazálními tělisky. První z nich, „singlet root“, vychází mezi B1 a A fibrilou, následně běží do zadní části buňky. Přední kořen (AR= R3) vzniká na pravé straně B2 a táhne se přímo pod buněčným povrchem směrem k dorzální levé straně buňky. Levý kořen (LR=R2) je hlavní podpěra ventrální rýhy, vychází z levé strany B1 a běží

k zadní straně buňky. K dorzální straně R2 je napojené „singlet root associated fiber“ (SA), které je spojeno s B1. R2 je spojen ventrální stranou s I fibrilou a dorzální stranou s A fibrilou.

Další nemikrotubulární struktura- B fibrila je asociována s ventrální stranou B1 a s levou stranou R1 a I fibrily. B fibrila vyplňuje prostor obklopený B3, B4 a ventrální stranou R2 a B1.

Nedaleko od distálního konce B1 se R2 rozděluje na vnější (iR2) a vnitřní (oR2) část. IR2 běží přímo k zadnímu konci buňky a napojuje se na SA. OR2 se

zpočátku táhne do zadní části společně s iR2. V centrální části R2 se mikrotubuly roztahují do šířky a běží směrem k dorzální straně buňky (viz Obr. 11; Yabuki et al., 2011). *T. globosa* nemá typicky exkavátní R1. Další zajímavostí u *T. globosa* je, že R3 vychází z ventrální strany B2, toto umístění R3 jinak známe pouze u *Stygiella incercerata* (Jakobida; Simpson & Patterson, 2001), u ostatních exkavátů vychází z dorzální strany. Struktura SA, kterou najdeme u *Tsukubamonas*, je známá dále pouze u několika exkavátů, jako je například



Obrázek č. 11 Uspořádání bičíkového aparátu *Tsukubamonas globosa*; A= A fibrila, AR=R3, přední kořen, B= B fibrila, B1= bazální tělísko zpětného bičíku, B2= přední bazální tělísko, B3= bazální tělísko 3, B4= bazální tělísko 4, BLR= dozadu směřující levý kořen, I=I fibrila, iR2= vnitřní levý kořen, MTOC= organizační centrum mikrotubulů, oR2= vnější levý kořen, SA= „singlet root associated fibre“, SR= „singlet root“; upraveno podle: Yabuki et al., 2011

Andalucia (Jakobida; Lara et al., 2006), *Paratrimastix* (Preaxostyla; Simpson & Patterson, 2001) a *Dysnectes* (Fornicata; Yubuki et al., 2007).

6. Závěr

Ke ztrátě dílčích exkavátních znaků došlo v průběhu evoluce jednotlivých skupin. Poslední společný předek eukaryot (LECA) zřejmě měl komplexní typicky exkavátní bičíkový aparát, který se napříč stromem eukaryot přeměnil mnoha, na sobě nezávislými, způsoby (Yubuki et al., 2013a). Hlavní modifikace v bičíkovém aparátu nastaly v souvislosti se změnou způsobu života. Předchůdce všech exkavát byl volně-žijící organismus, který se v průběhu evoluce přizpůsobil dalším možným životním strategiím, jako je parazitizmus (Yubuki et al., 2016a). Někteří parazitičtí exkavátní protisti si nezávisle vyvinuli struktury, které jim pomáhají přežít v hostiteli např. ventrální disk *Giardia* či rostelum *Oxymonas*, u jiných došlo k výrazné redukci ancestrálního aparátu na přijímání potravy a s ním asociovaných mikrotubulárních kořenů.

Porozumět evoluci jednotlivých skupin není jednoduché, například u Diplomonadida jsou navrženy tři potenciální scénáře, které říkají, jak mohlo dojít k přeměně buňky unizoické (např. *Enteromonas*) na buňku diplozoickou (např. *Hexamita*) či naopak (Kolisko et al., 2008). Zcela odlišný cytoskelet, který se doposud nepodařilo homologizovat s cytoskeletem typických exkavát, mají Parabasalia. U Parabasalia se ztratila ancestrální exkavátní ventrální rýha a příbuznost s ostatními metamonádami se podařilo potvrdit až molekulárně-fylogenetickými analýzami (Henze et al., 2001; Hampl et al., 2005).

Zajímavé evoluční trendy můžeme pozorovat i ve skupině Heterolobosea. Plezimorfnní znaky nesou zástupci podkmene Pharyngomonada, u nichž se zachoval typicky exkavátní kořen R1, který je spojený s typicky exkavátní C fibrilou. R1 se zachoval i u *Creneis* a *Dactylomonas*, u ostatních heterolobózních rodů jej nenajdeme. Naopak mezi nejvíce odvozené Heterolobosea patří například rody *Naegleria* či *Willaertia*, které zcela ztratily ventrální rýhu. Zde, u kmene Heterolobosea, je patrné, jak postupně docházelo k redukci ventrální rýhy (Dobson et al., 1993; Hanousková et al., 2018; Panek et al., 2014; Pánek et al., 2017).

Ve skupině Preaxostyla, do které se řadí neexkavátní Oxymonadida, došlo ke změně způsobu života. Zatímco zástupci čeledi Trimastigidae a Paratrimastigidae jsou volně žijící

typičtí exkaváti, oxymonády jsou endosymbionti živočichů, kteří se přizpůsobili životu v hostiteli a exkavátní ventrální rýhu ztratili. Ve ventrální rýze leží cytostom a probíhá jí zpětný bičík, kterým si buňka nahání potravu, oxymonády si potravu nahánět nepotřebují, a proto je jejich cytoskelet značně pozměněný, někteří zástupci jsou navíc opatřeni rostelem. Příbuznost oxymonád s Trimastigidae a Paratrimastigidae byla také stanovena až na základě molekulárně-fylogenetických studií (Dacks et al., 2001). Mezi Euglenozoa také můžeme pozorovat zajímavé změny související se změnou způsobu života. Přestože jsou Euglenozoa druhově velmi bohatá skupina, jejich bičíkový aparát je dosti konzervativní. Typicky exkavátní struktury u Euglenozoa zanikly včetně exkavátní ventrální rýhy. U parazitických trypanosomatidů došlo ke ztrátě zpětného bičíku a dalších mikrotubulárních struktur, někteří zástupci Euglenozoa mají naopak bazální tělíška zmnožená.

Studiem morfologie a ultrastrukturních znaků se dají odhalit příbuzenské vztahy mezi různými skupinami. Ovšem bez molekulárního výzkumu by se nedaly odhalit příbuzenské vztahy mezi skupinami, které si nejsou po ultrastrukturní stránce podobné. Před nástupem molekulárně-fylogenomických studií se do taxonu Excavata řadili pouze zástupci s ventrální rýhou, kterých je, jak již dnes víme, mnohem méně než těch bez ventrální rýhy. První, molekulárně-fylogenomické analýzy byly založeny na malém počtu genů a jejich výsledky nebyly dostatečně přesné, ale i tyto nekomplexní analýzy byly dostatečné k tomu, aby poukázaly na příbuznost linií s a bez ventrální rýhy. Dnes jsou analýzy založeny na stovkách genů, ale i tak vztahy mezi Excavata stále čekají na své rozřešení.

7. Zdroje

- Adam, R.D. (2017). Diplomonadida. *Handbook of the Protists, Second Edition, Springer, Switzerland*, 1219-1246.
- Adl, S.M., Bass, D., Lane, C.E., Lukes, J., Schoch, C.L., Smirnov, A., Agatha, S., Berney, C., Brown, M. W., Burki, F. et al. (2019). Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 4-119.
- Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Gall, L.I., Lynn, D.H., McManus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A., Spiegel, F.W. (2012). The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429-514.
- Baldauf, S. (2003). The Deep Roots of Eukaryotes. *Science*, 300(5626), 1703-1706.
- Balamuth, W., Bradbury, P.C., Schuster, F.L. (1983). Ultrastructure of the Amoeboflagellate *Tetramitus rostratus*. *The Journal of Protozoology*, 30(2), 445-555.
- Banik, G.R., Birch, D., Stark, D., Ellis, J.T. (2012). A microscopic description and ultrastructural characterisation of *Diantamoeba fragilis*: An emerging cause of human enteric disease. *International Journal of Parasitology*, 42(2), 139-153.
- Bernard, C., Simpson, A.G.B., Patterson, D.J. (1997). An Ultrastructure Study of a Free-living Retortamonad, *Chilomastix cuspidata* (Larsen & Patterson, 1990) n. comb. (Retortamonadida, Protista). *European Journal of Protistology*, 33(3), 254-265.
- Brown, S., De Jonckheere, J.F. (1999). A Reevaluation of the Amoeba Genus *Vahlkampfia* Based on SSUrDNA Sequences. *European Journal of Protistology*, 35(1), 49-54.
- Brugerolle, G. (1975). Etude Ultrastructurale du Genre *Enteromonas* da Fonseca (Zoomastigophoreau et Révision de l'Ordre des Diplomonadida Wenyon. *The Journal of Protozoology*, 22(4), 468-475.
- Brugerolle, G., Kunstyr, J., Senaud J., Friedhoff, K.T. (1980). Fine Structure of Trophozoites and Cysts of the Pathogenic Diplomonad *Spironucleus muris*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 62(1), 47-61.
- Brugerolle, G. (1991). Flagellar and cytoskeletal systems in amitochondrial flagellates: Archamoeba, Metamonada and Parabasala. *Protoplasma*, 164(1-3), 70-90.
- Brugerolle, G. (1992). Flagellar apparatus duplication and partition, flagellar transformation during division in *Entosiphon sulcatum*. *BioSystems*, 28(1-3), 203-209.
- Brugerolle, G., Viscogliosi, E. (1994). Organization and composition of the striated roots supporting the Golgi apparatus, the so-called parabasal apparatus, in parabasalid flagellates. *Biology of the cell*, 81(3), 277-285.
- Brugerolle, G., König, H. (1997). Ultrastructure and Organization of the Cytoskeleton in *Oxymonas*, an Intestinal Flagellate of Termites. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 44(4), 305-313.

- Brugerolle, G. (1999). Fine Structure of *Pseudotrypanosoma giganteum* of *Porotermes*, a Trichomonad with a Contractile Costa. *European Journal of Protistology*, 35(2), 121-128.
- Brugerolle, G. (2000). A Microscopical Investigation of the Genus *Foaina*, a Parabasalid Protist Symbiotic Termites and Phylogenetic Considerations. *European Journal of Protistology*, 36(1), 20-28.
- Brugerolle, G., Lee, J.J. (2000). Phylum Parabasalia. *The Illustrated guide to the protozoa second edition*. 1196-1250.
- Brugerolle, G., Müller, M. (2000). Amitochondriate flagellates. *The Flagellates Unity, diversity and evolution*, 166- 189.
- Brugerolle, G., Patterson, D.J. (2001). Ultrastructure of *Josenina pulchella* Grassi, 1917 (Protista, Parabasalia) a reassessment of evolutionary trends in the parabasalids, and a new order Cristamonadida for devescovinid, calonymphid and lophomonad flagellates. *Organism Diversity & Evolution*, 1(2), 147-160.
- Brugerolle, G., Regnault, J.P. (2001). Ultrastructure of the enteromonad flagellate *Caviomonas mobilis*. *Parasitology research*, 87(8), 662-665.
- Brugerolle, G., Bordereau, C. (2003). Ultrastructure of *Joenoides intermedia* (Grassé 1952), a symbiotic parabasalid flagellate of *Hodotermes mossambicus*, and its comparison with other joeniid genera. *European Journal of Protistology*, 39(1), 1-10.
- Brugerolle, G. (2004). Devescovinid features, a remarkable surface cytoskeleton, and epibiotic bacteria revisited in *Mixotricha paradoxa*, a parabasalid flagellate. *Protoplasma*, 244(1-2), 49-59.
- Brugerolle, G., Simpson, A.G.B. (2004). The Flagellar Apparatus of Heteroloboseans. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(1), 96-107.
- Burki, F., Roger, A., Brown, M., Simpson, A.G.B. (2020). The New Tree of Eukaryotes. *Trends in Ecology and Evolution*, 35(1), 43-55.
- Carpenter, K.J., Chow, L., Keeling, P.J. (2009). Morphology, Phylogeny, and Diversity of *Trichonympha* (Parabasalia: Hypermastigida) of the Wood-Feeding Cockroach *Cryptocercus punctulatus*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(4), 305-313.
- Cavalier-Smith, T. (2002). The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2), 297-354.
- Cavalier-Smith, T. (2003). Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. *European Journal of Protistology*, 39(4), 338-348.
- Cavalier-Smith, T. (2013). Early evolution of eukaryote feeding modes, cell structural diversity, and classification of the protozoan phyla Loukozoa, Sulcozoa, and Choanozoa. *European Journal of Protistology*, 49(2), 115-178.
- Cavalier-Smith, T. (2014). The Neomuran Revolution and Phagotrophic Origin of Eukaryotes and Cilia in the Light of Intracellular Coevolution and a Revised Tree of Life. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(9), a016006.

- Cavalier-Smith, T., Chao, E.E., Snell, E.A., Berney, C., Fiore-Donno, A.M., Lewis, R. (2014). Multigene eukaryote phylogeny reveals the likely protozoan ancestor of opisthokonts (animals, fungi, choanozoans) and Amoebozoa. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 81, 71-85.
- Cavalier-Smith (2016). Higher classification and phylogeny of Euglenozoa. *European Journal of Protistology*, 56, 250-276.
- Cepicka, I., Hampl, V., Kulda, J. (2010). Critical Taxonomic Revision of Parabasalids with Description of one New Genus and three New Species. *Protist*, 161(3), 400-433.
- Cepicka, I., Dolan, M.F., Gile, G.H. (2017). Parabasalia. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 1175-1218.
- Ceza, V., Panek, T., Smejkalova, P., Cepicka, I. (2015). Molecular and morphological diversity of the genus *Hypotrichomonas* (Parabasalia: Hypotrichomonadida), with descriptions of six new species. *European Journal of Protistology*, 51(2), 158-172.
- Dacks, J.B., Silberman, J.D., Simpson, A.G.B., Moriya, S., Kudo, T., Ohkuma, M., Redfield, R.J. (2001). Oxymonads Are Closely Related to the Excavate Taxon Trimastix. *Molecular Biology and evolution*, 18(6), 1034-1044.
- David, V., Archibald, J.M., (2016). Evolution: Plumbing the Depths of Diplonemid Diversity. *Current Biology*, 26(24), 1290-1292.
- Dawson, N.S., Walne, P.L. (1991). Structural characterization of Eutreptia (Euglenophyta). III. Flagellar structure and possible function of the paraxial rods. *Phycologia*, 30(5), 415-437.
- Dawson, S.C., Paredez, A.R. (2013). Alternative cytoskeletal landscapes: Cytoskeletal novelty and evolution in basal excavate protists. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(1), 134-141.
- Derelle, R., Torruella, G., Klimes, V., Brinkmann, H., Kim, E., Vlček, C., Lang, B.F., Elias, M. (2015). Bacterial proteins pinpoint a single eukaryotic root. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(7), E693-E699.
- Desser, S.S., Hong, H., Siddall, M.E, Barta, J.R. (1993). An Ultrastructural Study of *Brugerolleia algonquinensis* gen. nov., sp. nov. (Diplomonadina; Diplomonadida), a Flagellate Parasite in the Blood of Frogs from Ontario, Canada. *European Journal of Protistology*, 29(1), 72-80.
- Dobson, P.J., Robinson, B.S., Christy, P., Hayes, S. (1993). Low genetic diversity in *Willaertia magna* from wide geographical sources, and characterisation of *Willaertia minor* n. sp. (Heterolobosea, Vahlkampfiidae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(3), 298-304.
- Dynesius, R.A., Walne, P.L. (1975). Ultrastructure of the Reservoir and Flagella in *Phacus Pleuronectes* (Euglenophyceae). *Journal of Phycology*, 11(2), 125-130.
- Eyden, B.P, Vickerman, K. (1975). Ultrastructure and Vacuolar Movements in the Free-Living Diplomonad *Trepomonas agilis* Klebs*. *The Journal of Protozoology*, 22(1), 54-66.

- Farmer, M.A., Trimer, R.E. (1988). Flagellar systems in the euglenoid flagellates. *Biosystems*, 21(3-4), 288-291.
- Farmer, M.A. (1993). Ultrastructure of *Ditrichomonas honigbergii* N. G., N. Sp. (Parabasalia) and Its Relationship to Amitochondrial Protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(5), 619-226.
- Friend, D.S. (1966). The fine structure of *Giardia muris*. *Journal of Cell Biology*, 29(2), 317-332.
- Gile, G.H., Slamovits, C.H. (2012). Phylogenetic Position of *Lophomonas striata* Bütschli (Parabasalia) from the Hingut of the Cockroach *Periplaneta americana*. *Protists*, 163(2), 274-283.
- Grimstone, A.V., Gibbons, I.R. (1966). The Fine Structure of the Centriolar Apparatus and Associated Structures in the Complex Flagellates *Trichonympha* and *Pseudotriconympha*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 250(766), 215-242.
- Hampl, V., Cepicka, I., Flegr, J., Tachezy, J., Kulda, J. (2004). Critical analysis of the topology and rooting the parabasal 16S r RNA tree. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 32(3), 711-723.
- Hampl, V., Horner, D.S., Dyal, P., Kulda, J., Flegr, J., Foster, P.G., Embley, T.M. (2005). Inference of the Phylogenetic Position of Oxymonads Based on Nine Genes: Support of Metamonada and Excavata. *Molecular Biology and Evolution*, 22(12), 2508-2518.
- Hampl, V., Cepicka, I., Flegr, J., Tachezy, J., Kulda, J. (2007). Morphological and Molecular Diversity of the Monocercomonadid Genera *Monocercomonas*, *Hexamastix*, and *Honigbergiella* gen. nov. *Protist*, 158(3), 365-383.
- Hampl, V., Hug, L., Leigh, J.W., Dacks, J.B., Lang, B.F., Simpson, A.G.B., Roger, A.J. (2009). Phylogenomic analyses support the monophyly of Excavata and resolve relationships among eukaryotic "supergroups". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(10), 3859-3864.
- Hampl, V. (2017). Preaxostyla. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 1139-1174.
- Hanouskova, P., Taborsky, P., Cepicka, I. (2018). *Dactylomonas* gen. nov., a Novel Lineage of Heterolobosean Flagellates with Unique Ultrastructure, Closely Related to the Amoeba *Selenaiion koniopes* Park, De Jonckheere & Simpson, 2012. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 120-139.
- He, D., Fiz-Palacios, O., Fu, C.-J., Fehling, J., Tsai, Ch.-Ch., Baldauf, S.L., (2014). An Alternative Root for the Eukaryote Tree of Life. *Current Biology*, 24(4), 465-470.
- Henze, K., Suguri, D.S., Moore, D.V., Sanchez, L.B., Muller, M., Embley, T.M. (2001). Unique phylogenetic relationships of glucokinase and glucosephosphate isomerase of the amitochondriate eukaryotes *Giardia intestinalis*, *Spironucleus barkhanus* and *Trichomonas vaginalis*. *Gene*, 281 (1-2), 123-131.

- Heiss, A.A, Kolisko, M., Ekelund, F., Brown, M.W., Roger, A.J, Simpson, A.G.B. (2018). Combined morphological and phylogenomic re-examination of malawimonads, a critical taxon for inferring the evolutionary history of eukaryotes. *Royal Society Open Science*, 5(4).
- Hilenski, L.L., Walne, P. (1985). Ultrastructure of the flagella of the colorless phagotroph *Peranema trichophorum* (Euglenophyceae).II. Flagellar roots. *Journal of Phycology*, 21(1), 125-134.
- Honigberg, B.M, Mattern, C.F.T., Daniel, W.A. (1968). Structure of *Pentatrichomonas hominis* (Davaine) as Revealed by Electron Microscopy. *The Journal of Protozoology*, 15(3), 419-430.
- Honigberg, B.M, Mattern, C.F.T., Daniel, W.A. (1971). Fine Structure of the Mastigont System in *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller). *The Journal of Protozoology*, 18(2), 183-198.
- Honigberg, B.M., Daniel, W.A., Mattern, C.F.T. (1972). Fine Structure of *Trichomonas batrachorum* (Perty)*. *The Journal of Protozoology*, 19(3), 446-453.
- Kirby, H. (1945). The Structure of the Common Intestinal Trichomonad of Man. *The Journal of Parasitology*, 31(3), 163-175.
- Kirby, W., Tikhonenkov, D.V., Mylnikov, A.P., Janousevec, J., Lax, G., Simpson, A.G.B. (2015). Characterization of *Tulamoeba bucina* n. sp., an Extremely Halotolerant Amoeboflagellate Heterolobosean Belonging to the *Tulamoeba-Pleurostomum* Clade. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(2), 227-238.
- Kolisko, M., Cepicka, I., Hampl, V., Leigh, J., Roger, A.J., Kulda, J., Simpson, A.G.B., Flegr, J. (2008). Molecular phylogeny of diplomonads and enteromonads based on SSU rRNA, alpha-tubulin and HSP90 genes: Implications for the evolutionary history of the double karyomastigont of diplomonads. *BMC evolutionary biology*, 8(1), 205.
- Kulda, J., Nohynkova, E., Ludvik, J. (1986). Basic structure and function of the trichomonad cell. *Acta Universitatis Carolinae-Biologica*. 30(3-4), 181-198.
- Lara, E., Chatzinotas, A., Simpson, A.G.B. (2006). *Andalucia* (n. gen.) - the Deepest Branch Within Jakobids (Jakobida; Excavata), Based on Morphological and Molecular Study of a New Flagellate from Soil. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(2), 112-120.
- Leandre, B.S., Keeling, P.J. (2004). Symbiotic Innovation in the Oxymonad *Streblomastix strix*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(3), 291-300.
- Leander, B.S., Lax, G., Karnkowska, A., Simpson, A.G.B. (2017). Euglenida. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 1047-1088.
- Lee, W.J., Miller, K., Simpson, A.G.B. (2014). Morphological and Molecular Characterization of a New Species of *Stephanopogon*, *Stephanopogon pattersoni* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 61(4), 289-398.
- Leedale, G., Vickerman, K. (2000). Phylum Euglenozoa. *The Illustrated Guide to the Protozoa second edition*, 1135-1185.

- Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., et al., (1980). A Newly Revised Classification of the Protozoa, *The Journal of Protozoology*, 27(1), 37-58.
- Lingle, W.L., Salisbury, J.L. (1995). Ultrastructure of the Paeabasalid Protist *Holomastigotoides*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 42(5), 490-505.
- Linton, E.E., Trimer, R.E. (2001). Reconstruction of the Flagellar Apparatus in *Ploetiu costutu* (Euglenozoa) and its Relationship to Other Euglenoid Flagellar Apparatuses. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48(1), 88-94.
- Malik, S., Brochu, C.D, Bilic, I., Yuan, J., Hess, M., Logsdon, J.M., Carlton, J. (2011). Phylogeny of Parasitic Parabasalia and Free-Living Relatives Inferred from Conventional Markers vs. *Rpb1*, a Single-Copy Gene. *PLoS ONE*, 6(6).
- Mattern, C.F.T., Honigberg, B.M., Daniel, W.A. (1967). The Mastigont System of *Trichomonas gallinae* (Rivoltap as Revealed by Electron Microscopy. *The Journal of Protozoology*, 14(2), 320-339.
- Mehlhorn, H., Al-Quraishy, S., Aziza, A., Hess, M. (2009). Fine structure of the bird parasites *Trichomonas gallinae* and *Tetratrichomonas gallinarum* from cultures. *105(3)*, 751-756.
- Moreira, D., Lopez-Garcia, P., Vickerman, K. (2004). An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(5), 1861-1875.
- Munsch, M., Lotfi, A., Hafez, H.M., Al-Quraishy, S., Mehlhorn, H. (2009). Light and transmission electron microscopic studies on trophozoites and cyst-like stages of *Histomonas meleagridis* from cultures. *Parasitol Res*, 104(3), 683-689.
- Mylnikov, A.P. (1985). A key to free-living flagellates of order Diplomonadida (Wenyon) Brugerolle. *Water communities and biology of hydrobiontes (Ed. Yakovlev VN)*. Nauka, Leningrad, 174-198.
- Mylnikov, A.P, Mylnikov, A.A. (2014). Structure of the flagellar apparatus of the bacterivorous flagellate *Histiona aroides* Pascher, 1943 (Jakobida, Excavata). *Inland Water Biology*, 7(4), 331-337.
- O'Kelly, C.J. (1997). Ultrastructure of trophozoites, zoospores and cysts of *Reclinomonas americana* Flavin & Nerad, 1993 (Protista *incertae sedis*: Histionidae). *European Journal of Protistology*, 33(4), 337-348.
- O'Kelly, C.J., Farmer, M.A., Nerad, T.A. (1999). Ultrastructure of *Trimastix pyriformis* (Klebs) Bernard et al.: Similarities of *Trimastix* Species with Retortamonad and Jakobid Flagellates. *Protist*, 150(2), 149-162.
- O'Kelly, C.J., Nerad, T.A (1999). *Malawimonas jakobiformis* n. gen., n. sp. (Malawimonadidae n. fam.): A *Jakoba*-like Heterotrophic Nanoflagellate with Discoidal Mitochondrial Cristae. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(5), 522-531.

- O'Kelly, C.J., Silberman, J.D., Zettler, L.A.A., Nerad, T.A., Sogin, M.L. (2003). *Monopylocystis visvesvarai* n. gen., n. sp. and *Sawyeria marylandensis* n. gen., n. sp.: Two New Amitochondrial Heterolobosean Amoebae from Anoxic Environments. *Protist*, 154(2), 281-290.
- Pánek, T., Čepicka, I. (2012). Diversity of Heterolobosea. In *Genetic Diversity in microorganisms*, 3-26.
- Panek, T., Silberman, J.D., Yubuki, N., Leander, B.S., Čepicka, I. (2012). Diversity, Evolution and Molecular Systematics of the Psalteriomonadidae, the Main Lineage of Anaerobic/Microaerophilic Heteroloboseans (Excavata: Discoba). *Protist*, 163(6), 807-831.
- Panek, T., Simpson, A.G.B., Hampl, V., Čepicka, I. (2014). *Creneis carolina* gen. et sp. nov. (Heterolobosea), a Novel Marine Anaerobic Protist with Strikingly Derived Morphology and Life Cycle. *Protist*, 165(4), 542-567.
- Panek, T., Simpson, A.G.B., Brown, M.W., Dyer, B.D. (2017). Heterolobosea. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 1005-1046.
- Park, J.S., Simpson, A.G.B., Lee, W.J., Cho, B.C. (2007). Ultrastructure and Phylogenetic Placement within Heterolobosea of the Previously Unclassified, Extremely Halophilic Heterotrophic Flagellate *Pleurostomum flabellatum* (Runinen 1938). *Protist*, 158(3), 397-413.
- Park, J.S., Kolisko, M., Heiss, A.A., Simpson, A.G.B. (2009). Light Microscopic Observations, Ultrastructure, and Molecular Phylogeny of *Hicanonectes teleskopos* n. g., n. sp., a Deep-Branching Relative of Diplomonads. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(4), 373-384.
- Park, J.S., Kolisko, M., Simpson, A.G.B. (2010). Cell Morphology and Formal Description of *Ergobibamus cyprinoides* n. g., n. sp., Another *Carpediemonas*- Like Relative of Diplomonads. *Eukaryotic microbiology*, 57(6), 520-528.
- Park, J.S., Simpson, A.G.B. (2011). Characterization of *Pharyngomonas kirbyi* (= "*Macropharyngomonas halophila*" nomen nudum), a Very Deep-branching, Obligately Halophilic Heterolobosean Flagellate. *Protist*, 162(5), 691-709.
- Patterson, D.J. (1990). *Jakoba Libera* (Ruinen, 1983), a heterotrophic flagellate from deep oceanic sediments. *Journal of the Marine biological Association of the United Kingdom* 1990; 70(2), 381-413.
- Patterson, D.J., Brugerolle, G. (1988). The Ultrastructural Identity of *Stephanopogon apogon* and the Relatedness of the Genus to Other Kinds of Protists, *European Journal of Protistology*, 23(3), 279-290.
- Pecka, Z., Nohýnková, E., Kulda, J. (1996). Ultrastructure of *Cochlosoma anatis* Kotlán, 1923 and Taxonomic Position of the Family Cochlosomatidae (Parabasala: Trichomonadida). *European Journal of Protistology*, 32(2), 190-201.
- Poyon, S.L., Sterud, E. (2002). Guidelines for species description of diplomonads flagellates from fish. *Journal of Fish Diseases*. 25(1), 15-31.
- Radek, R. (1994). *Monocercomonoides termitis* n. sp., an Oxymonad from the Lower Termite *Kalotermeis sinaicus*. *Archiv für Protistenkunde*, 144(4), 373-382.

- Radek, R., Hausmann, K. (1994). *Placojoenia sinaica* n. g., n. sp., a Symbiotic Flagellate from the Termite *Kaloterme sinaicus**. *European Journal of Protistology*, 30(1), 25-37.
- Reyes, R.R. (1964). Género Trimitus Alexeie, 1910. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 13, 59.
- Rodriguez-Ezpeleta, N., Brinkmann, H., Burger, G., Roger, A.J., Gray, M.W., Philippe, H., Lang, B.F. (2007). *Current Biology*, 17(16), 1420-1425.
- Saldarriaga, J., Gile, G.H., James, E.R., Horak, A., Scheffrahn, R.H., Keeling, P.J. (2011). Morphology and Molecular Phylogeny of *Pseudotriconympha hertwigi* and *Pseudotriconympha paulistana* (Triconymphaea, Parabasalia) from Neotropical Rhinotermitids. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(6), 487-496.
- Schuster, F.L. (1968). Ultrastructure of *Histomonas meleagridis* (Smith) Tyzzer, a Parasitic Amebo-Flagellate. *The Journal of Parasitology*, 54(4), 735-737.
- Simpson, A.G.B., Patterson, D.J. (1999). The ultrastructure of Carpediemonas membranifera (Eukaryota) with reference to the "Excavate hypothesis". *European Journal of Protistology*, 35(4), 353-370.
- Simpson A.G.B., Patterson, D.J. (2001). On Core Jakobids and Excavate Taxa: The Ultrastructure of *Jakoba incarcerata*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48(4), 480-492.
- Simpson, A.G.B., Radek, R., Dacks, J.B, O'Kelly, C.J. (2002). How Oxymonads Lost Their Groove: An Ultrastructural Comparison of *Monocercomonoides* and Excavate Taxa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(3), 239-248.
- Simpson, A.G.B. (2003). Cytoskeletal organization, phylogenetic affinities and systematics in the contentious taxon Excavata (Eukaryota). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(6), 1759-1777.
- Simpson, A.G.B. (2017a). Jakobida. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 973-1004.
- Simpson, A.G.B. (2017b). Protist Diversity and Eukaryote Phylogeny. *Handbook of the Protists Second Edition*, Springer, Switzerland, 1-22.
- Simpson, A.G.B., Cepicka, I. (2019). Amitochondriate Protists (Diplomonads, Parabasalids and Oxymonads). *Encyclopedia of microbiology*. 86-98.
- Smirnov, A.V., Fenchel, T. (1996). *Vahlkampfia anaerobica* n. sp. and *Vannella peregrinia* n. sp. (Rhizopoda)- Anaerobic Amoebae from a Marine Sediment. *Archiv für Protistenkunde*, 147, 189-198.
- Smirnov, A.V., Goodkov, A.V. (1999). An Illustrated list of basic morphotypes of Gymnamoebia (Rhizopoda, Lobosea). *Protistology* 1(1), 20-29.
- Smirnov, A.V., Brown, S. (2004) Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae. *Protistology*, 3(3), 148-190.
- Streud, E. (1998). Ultrastructure of *Spironucleus torosa* Poynton & Morrisin, 1990 (diplomonadida: Hexamitidae), in cod *Gadus morhua* (L.) and saithe *Pollachius virens* (L.) from Douth. Eastern Norway. *European Journal of Protistology*, 34(1), 69-77.

- Tamm, S., Tamm, S.L. (1980). Origin and development of free kinetosomes in the flagellates *Deltotrichonympha* and *Koruga*. *Journal of Cell Science*, 42(1), 189-205.
- Treitli, S.C., Kotyk, M., Yubuki, N., Jiroukova, E., Vlasakova, J., Smejkalova, P., Sipek, P., Cepicka, I., Hampl, V. (2018). Molecular and Morphological Diversity of the Oxymonad Genera *Monocercomonoides* and *Blattomonas* gen. nov. *Protist*, 169(5), 744-783.
- Trimer, R.E., Lewandowski, C.L. (1994). Ultrastructure of the Basal Apparatus and Putative Vestigial Feeding Apparatuses in a Quadriflagellate Euglenoid (Euglenophyta). *Journal of Phycology*, 30(1), 28-38.
- Visvesvara, G.S., Moura, H., Schuster, F.L. (2007). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 50(1), 1-26.
- Visvesvara, G.S. Sriram, R., Qvarnstrom, Y., Bandyopadhyay, K., Da Silva, A.J., Norman, J., Pieniazek N.J., Cabral G.A. (2009). *Paravahlkampfia francinae* n. sp. Masquerading as an Agent of Primary Amebic Meningoencephalitis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(4), 357-366.
- Yabuki, A., Nakayama, T., Yubuki, N., Hashimoto, T., Ishida, K., Inagaki, Y. (2011). *Tsukubamonas globosa* n. gen., n. sp., a Novel Excavate Flagellate Possibly Holding a Key for the Early Evolution in "Discoba". *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(4), 319-331.
- Yubuki, N., Inagaki, Y., Nakayama, T., Inouye, I. (2007). Ultrastructure and Ribosomal RNA Phylogeny of the Free-Living Heterotrophic Flagellate *Dysnectes brevis* n. gen., n. sp., a New Member of the Fornicata. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54(2), 191-200.
- Yubuki, N., Leander, B.S. (2008). Ultrastructure and molecular phylogeny of *Stephanopogon minuta*: An enigmatic microeukaryote from marine interstitial environments. *European Journal of Protistology*, 44(4), 241-253.
- Yubuki, N., Edgcomb, V.P., Bernhard, J.M., Leander, B.S. (2009). Ultrastructure and molecular phylogeny of *Calkinsia aureus*: cellular identity of a novel clade of deep-sea euglenozoans with epibiotic bacteria. *BMC Microbiology*, 9(1), 16.
- Yubuki, N., Ceza, V., Cepicka, I., Yabuki, A., Inagaki, Y., Nakayama, T., Inouye, I., Leander, B.S. (2010). Cryptic Diversity of Free-Living Parabasalids, *Pseudotrichomonas keilini* and *Lacustera cypriaca* n. g., n. sp., as Inferred from Small Subunit rDNA Sequences. *Eukaryotic Microbiology*, 57(6), 554-561.
- Yubuki, N., Leander, B.S., (2013a). Evolution of microtubule organizing centers across the tree of eukaryotes. *Plant journal*, 75(2), 230-244.
- Yubuki, N., Simpson, A.G.B., Leander, B.S. (2013b). Comprehensive Ultrastructure of *Kipferlia bialata* Provides Evidence for Character Evolution within the Fornicata (Excavata). *Protist*, 164(3), 423-439.
- Yubuki, N., Simpson, A.G.B., Leander, B.S. (2013c). Reconstruction of the feeding apparatus in *Postgaardi mariagerensis* provides evidence for character evolution within the Symbiontida (Euglenozoa). *European Journal of Protistology*, 49(1), 32-39.

- Yubuki, N., Cepicka, I., Leander, B.S. (2016a). Evolution of the microtubular cytoskeleton (flagellar apparatus) in parasitic protists. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 209(1-2), 26-34.
- Yubuki, N., Huang, S.S.C., Leander, B.S. (2016b). Comparative Ultrastructure of Fornicate Excavates, Including a Novel Free-living Relative of Diplomonads: *Aduncisulcus paluster* gen. et sp. nov. *Protist*, 167(6), 584-596.
- Yubuki, N., Zadrobnikova E., Cepicka, I. (2016c). Ultrastructure and Molecular Phylogeny of *Iotanema spirale* gen. nov. et sp. nov., a New Lineage of Endobiotic Fornicata with Strikingly Simplified Ultrastructure. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 64(4), 422-433.
- Zhang, Q., Taborsky, P., Silberman, J.D., Panek, T., Cepicka, I., Simpson, A.G.B. (2015). Marine isolates of *Trimastix marina* from a plesiomorphic deep-branching lineage within Preaxostyla, separate from other known trimastigids (*Paratrimastix* n. gen.). *Protist*, 166(4), 468-491.
- Zhao, S., Birki, F., Brate, J., Keeling, P.J., Klavenees, D., Shalchian-Tabrizi, K. (2012). *Molecular Biology and Evolution*, 29(6), 1557-1568.