

**Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie**

**Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Zoology**

Doktorský studijní program: Zoologie
Ph.D. program: Zoology

Autoreferát disertační práce
Summary of the Ph.D. Thesis



Diverzita a fylogeneze archaméb
Diversity and phylogeny of Archamoebae

Mgr. Eliška Zadrobílková

Školitel/Supervisor: doc. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Praha, 2015

Abstrakt

Zástupci skupiny Archamoebae jsou volně žijící nebo endobiotičtí améboidní bičíkovci nebo měňavky. Protože se vyskytují v anoxickém nebo mikrooxickém prostředí, jejich mitochondrie jsou značně redukované. Zpočátku se dokonce předpokládalo, že mitochondrie postrádají úplně, a proto byly považovány za jedny z nejpůvodnějších eukaryotických organismů vůbec. Tato hypotéza byla později vyvrácena a dnes víme, že archaméby náleží do říše Amoebozoa a spolu s aerobními hlenkami (Macromycetozoa) a sběrným taxonem Variosea vytváří skupinu Conosa.

Charakteristickým znakem bičíkatých archaméb je poměrně jednoduchý mikrotubulární cytoskelet, který se skládá z jednoho bazálního tělíska, ze kterého vychází bičík, postranního kořene a mikrotubulárního koše. U bezbičíkatých zástupců byl tento cytoskelet zcela redukován.

V minulosti bylo vytvořeno asi 350 jmen archaméb na druhové úrovni. Popisy druhů jsou převážně založeny na morfologických znacích, které jsou ale často nedostačující, a proto je identita druhů nejistá a je pravděpodobné, že řada druhů bude v budoucnu synonymizována. Problémem je také nedostatek sekvenčních dat.

V našem projektu se nám podařilo výrazně rozšířit dataset DNA sekvencí převážně volně žijících archaméb. Na základě kombinace molekulárních a morfologických dat jsme popsali 13 nových druhů archaméb. Potvrdili jsme, že rod *Rhizomastix* patří mezi archaméby a že vykazuje nový typ cytoskeletárního uspořádání u této skupiny. Jako první jsme provedli multigenovou analýzu této skupiny. Z našich fylogenetických analýz vyplývá, že se archaméby rozpadají na čtyři hlavní linie: Entamoebidae, Pelomyxidae, Rhizomastixidae a Mastigamoebidae. Ukázali jsme, že rod *Mastigella* je parafyletický, protože *Pelomyxa* představuje jeho vnitřní větev, a že převážně parazitický rod *Entamoeba* je sesterský zbytku archaméb. Z našich výsledků také vyplývá, že společný předek archaméb byl pravděpodobně volně žijící a parazitismus se v této skupině objevil nejméně třikrát nezávisle na sobě.

Abstract

Members of the group Archamoebae are free-living or endobiotic amoeboid flagellates and amoebae. They live in anoxic or microoxic habitats, and their mitochondria have been reduced. They were originally thought to lack mitochondria and represent one of the earliest eukaryotes. However, this hypothesis has been refuted, and now it is evident that the Archamoebae belongs to the lineage Conosa within the supergroup Amoebozoa, together with aerobic slime molds (Macromycetozoa) and variosean amoebae and flagellates.

Relatively simple microtubular cytoskeleton is a characteristic feature of Archamoebae. It consists of a single basal body from which a flagellum arises, lateral root, and microtubular cone. Cytoskeleton of aflagellated genera has been completely reduced. About 350 species names of Archamoebae have been created so far. However, most descriptions were based on inadequate morphological features. The identity of numerous species is uncertain, and many of them are likely synonymous. Another problem is a small amount of available molecular data.

During our project, we have substantially improved the dataset of DNA sequences of archamoebae. On the basis of molecular and morphological data, we described 13 new species. We showed that genus *Rhizomastix* belongs to Archamoebae and displays a new type of the cytoskeletal arrangement within the group. We carried out the first multigene analysis of Archamoebae with reasonable taxon sampling. On the basis of our phylogenetic analysis, we conclude that Archamoebae splits into four major lineages: Entamoebidae, Pelomyxidae, Rhizomastixidae and Mastigamoebidae, the first one being sister to the rest. We showed that *Pelomyxa* forms an internal branch of paraphyletic *Mastigella*. We suppose that the last common ancestor of Archamoebae was free-living, and the parasitism has evolved at least three times independently within the group.

Úvod

Předkládaná disertační práce se zabývá fylogenezí a diverzitou doposud málo prostudované skupiny Archamoebae (Amoebozoa: Conosa). Archaméby jsou volně žijící nebo endobiotičtí améboidní bičíkovci nebo měňavky, které nalezneme v anoxickém nebo mikrooxickém prostředí. Skupina je známá především díky významnému lidskému patogenu *Entamoeba histolytica*, který se stal jedním z modelových organismů, a také proto je poměrně často studován. Na druhou stranu o volně žijících archamébách máme pouze omezené informace, i přesto, že by jejich studium mohlo přispět k pochopení evoluce parazitismu v této skupině. V minulosti bylo sice vytvořeno velké množství druhových jmen archaméb, jednotlivé popisy jsou ale obvykle nepřesné a neúplné a často tak není možné nebo je jen velmi obtížné zpětně identifikovat již existující druhy. Ukázalo se totiž, že zde existuje velká míra polymorfismu a pleomorfismu a že už pouze odchylka tvaru nebo velikosti buňky byla často popsána jako nový druh (Simpson et al. 1997). Proto se předpokládá, že v rámci archaméb existuje velké množství synonymních taxonů (Bernard et al. 2000) a že se tedy neobejdeme bez použití molekulárních markerů (Edgcomb et al. 2002). První podrobnější fylogenetické analýzy také ukazují, že původní dělení archaméb založené pouze na způsobu života, které předpokládalo existenci jedné parazitické a druhé volně žijící linie, je pravděpodobně nepřesné (Cavalier-Smith et al. 2004; Stensvold et al. 2012).

Cíle práce

- Získat a dlouhodobě kultivovat nové izoláty především volně žijících ale i endobiotických zástupců archaméb.
- Získané izoláty porovnat s již popsány druhy, případně popsat druhy nové.
- Pomocí molekulárních markerů co nejpřesněji zrekonstruovat fylogenetické vztahy v rámci archaméb a

pokusit se zmapovat evoluci parazitismu uvnitř této skupiny.

- Nalézt platné morfologické znaky hlavních linií archaméb.

Materiál a metodika

Během posledních několika let jsme v Laboratoři diverzity a evoluce anaerobních protist vytvořili jednu z nejrozsáhlejších sbírek volně žijících a parazitických anaerobních prvoků. Sběrka čítá stovky izolátů, a to včetně archaméb, ze kterých byla izolována genomová DNA a následně byl amplifikován gen pro RNA malé ribosomální podjednotky (SSU rRNA), případně gen pro aktin. Pro tento účel byly použity jak univerzální eukaryotické primery (Marande et al. 2009; Medlin et al. 1988; Yoon et al. 2008), tak primery navržené přímo pro archaméby (Ptáčková et al. 2013). V případě nízké koncentrace PCR produktu, nebo pokud se jednalo o směsnou kulturu více druhů archaméb, bylo nutné PCR produkty klonovat. Ze získaných sekvencí byla provedena fylogenetická analýza.

Morfologie nových druhů archaméb byla studována pod světelným mikroskopem na žijících buňkách, a to především na tzv. „gliding“ formách, a na fixovaných buňkách barvených protargolem. U vybraných izolátů byla pomocí transmisního elektronového mikroskopu prozkoumána také ultrastruktura.

Pro potřeby multigenové analýzy archaméb byla z mono-eukaryotických kultur druhů *Mastigamoeba abducta*, *Rhizomastix libera*, *R. elongata* a *Mastigella eilhardi* izolována totální RNA. RNA druhu *Pelomyxa* sp. byla izolována z jedné buňky. Následně byly vytvořeny cDNA knihovny, které byly dále sekvenovány. Z výsledných dat byla provedena fylogenetická analýza založená na genech pro aktin, α -tubulin, β -tubulin, EF1 α , EF2, HSP70 a HSP90.

Výsledky a diskuse

Z kultivovaných izolátů archaméb jsme získali 31 dosud nepublikovaných sekvencí genu pro SSU rRNA a 22 nových sekvencí genu pro aktin. Kombinací molekulárních

a morfologických znaků jsme popsali 13 nových druhů archaméb patřících do rodů *Mastigamoeba*, *Mastigella* a *Rhizomastix*. Zjistili jsme, že sekvence, která se na fylogenetických stromech objevovala jako druh *Mastigella commutans* (Edgcomb et al. 2002), pravděpodobně patří druhu *Mastigamoeba punctachora* a sekvence SSU rRNA genu prezentovaná jako *Pelomyxa palustris* (Milyutina et al. 2001), patří ve skutečnosti *P. stagnalis*. Ukázali jsme, že rod *Rhizomastix* opravdu patří mezi archaméby, jak již dříve předpokládali Kudo (1939) a Cepicka (2011). U stejného rodu jsme odhalili, že jeho typický znak, rhizostyl, pravděpodobně představuje modifikovaný mikrotubulární koš bičíkatých archaméb. Rhizostyl může být navíc u odlišných druhů rodu *Rhizomastix* různě vyvinut.

Z fylogenetických analýz vyplývá, že se archaméby dělí na čtyři hlavní čeledi: Entamoebidae, Pelomyxidae, Rhizomastixidae a Mastigamoebidae. Čeleď Entamoebidae zahrnuje pouze rod *Entamoeba* a představuje hlubokou linii této skupiny, což je v souladu s hypotézou, kterou vyslovil Cavalier-Smith (1991). Čeleď Pelomyxidae zahrnuje jak rod *Pelomyxa*, tak zřejmě parafyletický rod *Mastigella*, který býval tradičně řazen do čeledi Mastigamoebidae (Adl et al. 2012). Čeleď Rhizomastixidae je sesterská čeleď Mastigamoebidae a rozpadá se na volně žijící a převážně parazitickou linii. Čeleď Mastigamoebidae můžeme na základě fylogeneze rozdělit na linii Mastigamoebidae A se známým modelovým organismem *Mastigamoeba balamuthi* a na Mastigamoebidae B, kam kromě volně žijících zástupců, jako je např. *Mastigamoeba simplex*, řadíme také parazitické rody *Endolimax* a *Iodamoeba*. Dělení čeledi Mastigamoebidae na dvě linie je podpořeno také morfologickými znaky, jako je celkový vzhled buněk a uspořádání bičíkového aparátu.

Na základě výsledků multigenové fylogenetické analýzy předpokládáme, že poslední společný předek archaméb již měl jak ϵ -proteobakteriální NIF systém, tak dráhu aktivace sulfátu lokalizovanou v mitochondrii. Dále je pravděpodobné, že parazitismus se u archaméb objevil v evoluci nejméně třikrát nezávisle na sobě, a to u předka čeledi Entamoebidae, u společného předka rodů *Iodamoeba* a *Endolimax* a v rámci rodu *Rhizomastix*.

Závěry

- Jako jediní dlouhodobě kultivujeme velké množství izolátů archaméb, mimo jiné také obtížně kultivovatelný rod *Pelomyxa*.
- Výrazně jsme rozšířili dataset DNA sekvencí archaméb.
- Na základě kombinace molekulárních a morfologických dat jsme popsali 13 nových druhů archaméb.
- Ukázali jsme, že rod *Rhizomastix* patří mezi archaméby a představuje nový typ cytoskeletálního uspořádání v této skupině.
- Na základě multigenové analýzy lze tvrdit, že se archaméby dělí na entaméby, které reprezentuje čeleď Entamoebidae, a pelobionty, kam zahrnujeme čeledi Pelomyxidae, Rhizomastixidae a Mastigamoebiae.
- Rod *Pelomyxa* pravděpodobně představuje vnitřní větev rodu *Mastigella*.
- Čeleď Mastigamoebidae se rozpadá do dvou evolučních linií, což je potvrzeno také morfologickými znaky.
- Poslední společný předek archaméb již měl jak ϵ -proteobakteriální NIF systém, tak dráhu aktivace sulfátu lokalizovanou v mitochondrii.
- Parazitismus se u archaméb pravděpodobně vyvinul nejméně třikrát nezávisle na sobě.

Životopis

Osobní data:

Datum a místo narození: 24. 2. 1986, Praha

E-mail: eliska.ptackova@centrum.cz

Tel.: +420 605 443 166

Vzdělání:

| | |
|-------------|--|
| od 2010 | Doktorské studium, obor zoologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze |
| 2008 – 2010 | Navazující magisterské studium, obor zoologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze |

- 2008 – 2011 Mimořádné studium pro získání pedagogické způsobilosti pro vyučování biologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
- 2005 – 2008 Bakalářské studium, obor biologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Zaměstnání:

- od 2015 Přírodovědní analytik – diagnostik – Národní referenční laboratoř pro diagnostiku virů a borélií elektronovou mikroskopií, Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, Praha 10, 100 48
- 2011 – 2014 Vědecký pracovník – Diverzita volně žijících aendobiotických anaerobních protist, Katedra zoologie PŘF UK, Viničná 7, Praha 2, 128 44

Stáže:

- 2012 Dvuměsíční vědecká stáž v laboratoři prof. A. J. Rogera na Dalhousie University, Halifax, Kanada

Publikace:

¹Pánek T, **Zadrobílková E**, Gentekaki E, Hroudová M, Roger AJ, Vlček Č, Čepička I. First multigene analysis of Archamoebae (Amoebozoa: Conosa) shows that Entamoebidae represents a deep lineage of the group. *Mol Phylogenet Evol*, *in press*.

¹**Zadrobílková E**, Smejkalová P, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae) with description of five new species. *J Eukaryot Microbiol*, *in press*. doi: 10.1111/jeu.12266.

¹**Zadrobílková E**, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular evidence support a close relationship between the free-living archamoebae *Mastigella* and *Pelomyxa*. *Protist* 166: 14-41.

Pánek T, **Ptáčková E**, Čepička I. 2014. Survey on diversity of marine/saline anaerobic Heterolobosea (Excavata: Discoba)

with description of seven new species. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 2280-2304.

¹**Ptáčková E**, Kostygov AY, Chistyakova LV, Falteisek L, Frolov AO, Patterson DJ, Walker G, Čepička I. 2013. Evolution of Archamoebae: morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. *Protist* 164: 380-410.

¹Publikace zahrnuté do disertační práce

Vybrané abstrakty z vědeckých konferencí:

Zadrobílková E, Smejkalová P, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae). 45. Jirovec protozoological days, Dubovice, Czech Republic.

Ptáčková E, Walker G, Čepička I. 2014. The phylogenetic evidence for the paraphyly of the genus *Mastigella* (Amoebozoa; Archamoebae). 44. Jirovec protozoological days, Visalaje, Czech republic.

Ptáčková E, Čepička I. 2013. PHEM1, the first known endobiotic *Carpediemonas*-like organism. XIV International congress of protistology, Vancouver, Canada.

Ptáčková E, Čepička I. 2013. The first known endobiotic *Carpediemonas*-like organism. 43. Jirovec protozoological days, Nový Dvůr, Czech republic.

Ptáčková E, Falteisek L, Kostygov AY, Chistyakova LV, Frolov AO, Walker G, Čepička I. 2012. Phylogeny and origin of parasitism in Archamoebae. *Protist* 2012; ISOP 62, ISEP XIX, Oslo, Norway.

Ptáčková E, Falteisek L, Kostygov AY, Chistyakova LV, Frolov AO, Walker G, Čepička I. 2012. Tracking the closest relative of parasitic entamoebae. 42. Jirovec protozoological days, Kletečná, Czech republic.

Ptácková E, Cepicka I. 2011. The enigmatic amoeboflagellate *Rhizomastix* is a member of Archamoebae and a close relative of the genus *Entamoeba*. VI European congress of protistology, Berlin, Germany.

Granty:

Hlavní řešitelka projektu GAUK 521112 Rod *Rhizomastix* jako modelový organismus pro studium evoluce parazitismu u archaméb (2011 – 2014).

Členka řešitelského kolektivu projektu GAČR P506/11/1317 Diverzita a evoluce anaerobních heteroloboseí, řešitel RNDr. Ivan Čepička, Ph.D (2010 – 2014).

Introduction

This Ph.D. thesis is focused on the phylogeny and diversity of the poorly-studied group Archamoebae (Amoebozoa: Conosa). Members of Archamoebae are free-living or endobiotic amoeboid flagellates and amoebae that live in anoxic or microoxic habitats. The best known archamoeba is the important human pathogen and model organism *Entamoeba histolytica*. On the other hand, the information on free-living archamoebae is scarce, although their study may contribute to the understanding the evolution of parasitism within the group. A number of species have been described in past, many descriptions were, however, too brief or inadequate. Therefore, it is impossible or very difficult to classify new isolates of free-living archamoebae into species. It has been shown that a high amount of polymorphism and pleomorphism exists in the group, and even a small difference in cell shape and size was often considered a basis for a new species description (Simpson et al. 1997). It is, therefore, supposed that many synonyms exist (Bernard et al. 2000), and molecular markers are needed to assess the true diversity (Edgcomb et al. 2002). The first detailed phylogenetic analyses show that the original classification of Archamoebae based on lifestyle that splits the group into one free-living and one parasitic lineage likely does not reflect the evolutionary history (Cavalier-Smith et al. 2004; Stensvold et al. 2012).

Aims of the study

- To obtain and culture new isolates of free-living and endobiotic members of Archamoebae.
- To compare new isolates with already existed species and to describe new species when appropriate.
- To reconstruct the phylogeny of Archamoebae and infer the number of independent origins of parasitism within the group.
- To define morphological synapomorphies of the major lineages of Archamoebae.

Material and methods

During last few years, our team in the Laboratory of diversity and evolution of anaerobic protists has established one of the largest collection of free-living and parasitic anaerobic protists. The collection comprises hundreds of isolates including Archamoebae. Genomic DNA was isolated from the cultures, and SSU rRNA and actin gene sequences were amplified using universal eukaryotic primers (Marande et al. 2009; Medlin et al. 1988; Yoon et al. 2008) or Archamoebae-specific primers (Ptáčková et al. 2013). In case of low concentration of PCR products or mixed cultures, PCR products were subcloned. Phylogenetic analyses that included the newly obtained sequences were carried out.

Morphology of living cells representing the gliding form and cells stained with protargol was observed under the light microscope. Ultrastructure of selected isolates was examined using transmission electron microscope.

For multigene analyses of Archamoebae, total RNA was isolated from monoprotist cultures of *Mastigamoeba abducta*, *Rhizomastix libera*, *R. elongata*, and *Mastigella eilhardi*. RNA of *Pelomyxa* sp. was isolated from a single cell. cDNA libraries were then constructed and sequenced. Phylogenetic analyses based on actin, α -tubulin, β -tubulin, EF1 α , EF2, HSP70 and HSP90 gene sequences were performed.

Results and discussion

We newly determined 31 SSU rRNA and 22 actin gene sequences from cultured Archamoebae strains. On the basis of combination of molecular and morphological features we described 13 new species of Archamoebae belonging to genera *Mastigamoeba*, *Mastigella*, and *Rhizomastix*. We discovered that sequences originally ascribed to *Mastigella commutans* (Edgcomb et al. 2002) and *Pelomyxa palustris* (Milyutina et al. 2001) belong, in fact, to *Mastigamoeba punctachora* and *P. stagnalis*, respectively. We confirmed that genus *Rhizomastix* belongs to Archamoebae as proposed by Kudo (1939) and Cepicka (2011). We showed that its typical feature, the rhizostyle, represents a modified cone of flagellated Archamoebae. Particular *Rhizomastix* species differ in the organization of the rhizostyle.

Phylogenetic analyses showed that Archamoebae consists of four main lineages, families Entamoebidae, Pelomyxidae, Rhizomastixidae, and Mastigamoebidae. Entamoebidae comprises only a single genus *Entamoeba* and represents a deep lineage of the group, which corresponds to the hypothesis proposed by Cavalier-Smith (1991). Pelomyxidae comprises genera *Pelomyxa* and *Mastigella*; the latter one traditionally belonged to Mastigamoebidae (Adl et al. 2012). Our analyses also suggested that *Mastigella* is paraphyletic having given rise to *Pelomyxa*. Rhizomastixidae is closely related to Mastigamoebidae and splits into the free-living and predominantly parasitic lineage, respectively. Mastigamoebidae splits into Mastigamoebidae A, which includes the well-known model organism *Mastigamoeba balamuthi*, and Mastigamoebidae B, which comprises several free-living species of *Mastigamoeba*, for example *Mastigamoeba simplex*, as well as parasitic genera *Endolimax* and *Iodamoeba*. The split of Mastigamoebidae is supported also by the general appearance of cells and arrangement of the flagellar apparatus.

On the basis of multigene phylogenetic analyses we propose that the ϵ -proteobacterial NIF system and the sulphate activation pathway localized in mitochondrion were present already in the last common ancestor of Archamoebae. It is also probable that parasitism has evolved at least three times independently within Archamoebae,

in the ancestor of Entamoebidae, in the common ancestor of genera *Iodamoeba* and *Endolimax*, and within the genus *Rhizomastix*.

Conclusions

- We have created a collection of cultures of various free-living Archamoebae, including *Pelomyxa*.
- We have significantly improved the taxon sampling of SSU rRNA and actin gene of Archamoebae.
- We described 13 new species of Archamoebae on the basis of a combination of molecular and morphological data.
- We showed that genus *Rhizomastix* belongs to Archamoebae and displays a new type of cytoskeletal organization within the group.
- We showed on the basis of a multigene analysis that Archamoebae splits into entamoebids represented by Entamoebidae and pelobionts that comprise families Pelomyxidae, Rhizomastixidae, and Mastigamoebidae.
- The genus *Mastigella* is probably paraphyletic with respect to *Pelomyxa*; both genera belong to Pelomyxidae.
- Family Mastigamoebidae splits into two lineages that differ morphologically.
- The ϵ -proteobacterial NIF system and the sulphate activation pathway localized in mitochondrion were present already in the last common ancestor of Archamoebae.
- Parasitism has evolved at least three times independently within Archamoebae.

Curriculum vitae

Personal data:

Birth date and birthplace: 24. 2. 1986, Prague

E-mail: eliska.ptackova@centrum.cz

Tel.: +420 605 443 166

Education:

- since 2010 PhD. study , program: zoology, Faculty of Science, Charles University in Prague
- 2008 – 2010 Master study, program: zoology, Faculty of Science, Charles University in Prague
- 2008 – 2011 Extra study for acquiring pedagogic qualification for teaching biology, Faculty of Science, Charles University in Prague
- 2005 – 2008 Bachelor study, program: biology, Faculty of Science, Charles University in Prague

Employment history:

- since 2015 Scientific analyst – diagnostician, National Reference Laboratory for Electron Microscopy Virus and *Borrelia* detection, National Institute of Public Health, Srobarova 48, Prague 10, 100 48
- 2011 – 2014 Researcher – Diversity of free-living and endobiotic anaerobic protists, Department of Zoology, Charles University in Prague, Vinicna 7, Prague 2, 128 44

Stays:

- 2012 Scientific stay (two months) in laboratory of Prof. A.J. Roger, Dalhousie University, Halifax, Canada

Publications:

¹Pánek T, **Zadrobílková E**, Gentekaki E, Hroudová M, Roger AJ, Vlček Č, Čepička I. First multigene analysis of Archamoebae (Amoebozoa: Conosa) shows that Entamoebidae represents a deep lineage of the group. *Mol Phylogenet Evol*, *in press*.

¹**Zadrobílková E**, Smejkalová P, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae) with description of five new species. *J Eukaryot Microbiol*, *in press*. doi: 10.1111/jeu.12266.

¹**Zadrobílková E**, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular evidence support a close relationship between the free-living archamoebae *Mastigella* and *Pelomyxa*. *Protist* **166**: 14-41.

Pánek T, **Ptáčková E**, Čepička I. 2014. Survey on diversity of marine/saline anaerobic Heterolobosea (Excavata: Discoba) with description of seven new species. *Int J Syst Evol Microbiol* **64**: 2280-2304.

¹**Ptáčková E**, Kostygov AY, Chistyakova LV, Falteisek L, Frolov AO, Patterson DJ, Walker G, Čepička I. 2013. Evolution of Archamoebae: morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. *Protist* **164**: 380-410.

¹Papers included in the Ph.D. thesis

Selected conference abstracts:

Zadrobílková E, Smejkalová P, Walker G, Čepička I. 2015. Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae). 45. Jirovec protozoological days, Dubovice, Czech Republic.

Ptáčková E, Walker G, Čepička I. 2014. The phylogenetic evidence for the paraphyly of the genus *Mastigella* (Amoebozoa; Archamoebae). 44. Jirovec protozoological days, Visalaje, Czech republic.

Ptáčková E, Čepička I. 2013. PHEM1, the first known endobiotic *Carpodemonas*-like organism. XIV International congress of protistology, Vancouver, Canada.

Ptáčková E, Čepička I. 2013. The first known endobiotic *Carpodemonas*-like organism. 43. Jirovec protozoological days, Nový Dvůr, Czech republic.

Ptackova E, Falteisek L, Kostygov AY, Chistyakova LV, Frolov AO, Walker G, Cepicka I. 2012. Phylogeny and origin of parasitism in Archamoebae. *Protist* 2012; ISOP 62, ISEP XIX, Oslo, Norway.

Ptáčková E, Falteisek L, Kostygov AY, Chistyakova LV, Frolov AO, Walker G, Čepička I. 2012. Tracking the closest relative of parasitic entamoebae. 42. Jirovec protozoological days, Kletečná, Czech republic.

Ptáčková E, Cepicka I. 2011. The enigmatic amoeboflagellate *Rhizomastix* is a member of Archamoebae and a close relative of the genus *Entamoeba*. VI European congress of protistology, Berlin, Germany.

Grants:

Principal investigator of Charles University Grant 389811 Genus *Rhizomastix* as a model organism for study of the evolution of parasitism in Archamoebae (2011 – 2014)

Researcher team member of Czech Science Foundation project P506/11/1317 Diversity and evolution of anaerobic Heterolobosea, main researcher Ivan Čepička (2010 – 2014)

Použitá literatura/References

Adl SM, Simpson AGB, Lane CHE, Lukeš J, Bass D, Bowser SS, Brown MW, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, Heiss A, Hoppenrath M, Lara E, le Gall L, Lynn DH, McManus H, Mitchell EAD, Mozley-Stanridge SE, Parfrey LW, Pawlowski J, Rueckert S, Shadwick L, Schoch CL, Smirnov A, Spiegel FW (2012) The revised classification of eukaryotes. *J Eukaryot Microbiol* **59**: 429-493

Bernard C, Simpson AGB, Patterson DJ (2000) Some free-living flagellates (Protista) from anoxic habitats. *Ophelia* **52**: 113-142

Cavalier-Smith T (1991) Archamoebae: the ancestral eukaryotes? *Biosystems* **25**: 25-38

Cavalier-Smith T, Chao EEY, Oates B (2004) Molecular phylogeny of Amoebozoa and the evolutionary significance of the unikont *Phalansterium*. *Eur J Protistol* **40**: 21-48

Cepicka I (2011) *Rhizomastix biflagellata* sp. nov., a new amoeboflagellate of uncertain phylogenetic position isolated from frogs. *Eur J Protistol* **47**: 10-15

Edgcomb VP, Simpson AGB, Zettler LA, Nerad TA, Patterson DJ, Holder ME, Sogin ML (2002) Pelobionts are degenerate protists: Insights from molecules and morphology. *Mol Biol Evol* **19**: 978-982

Kudo RR (1939) Protozoology. 2nd ed. Charles C. Thomas, Springfield

Marande W, López-García P, Moreira D (2009) Eukaryotic diversity and phylogeny using small- and large-subunit ribosomal RNA genes from environmental samples. *Environ Microbiol* **11**: 3179-3188

Medlin L, Elwood HJ, Stickel S, Sogin ML (1988) The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene* **71**: 491-499

Milyutina IA, Aleshin VV, Mikrjukov KA, Kedrova OS, Petrov NB (2001) The unusually long small subunit ribosomal RNA gene found in amitochondriate amoeboflagellate *Pelomyxa palustris*: its rRNA predicted secondary structure and phylogenetic implication. *Gene* **272**: 131-139

Ptáčková E, Kostygov AY, Chistyakova LV, Falteisek L, Frolov AO, Patterson DJ, Walker G, Cepicka I (2013) Evolution of archamoebae: Morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. *Protist* **164**: 380-410

- Simpson AGB, Bernard C, Fenchel T, Patterson DJ (1997)**
The organisation of *Mastigamoeba schizophrenia* n. sp.: more evidence of ultrastructural idiosyncrasy and simplicity in pelobiont protists. *Eur J Protistol* **33**: 87-98
- Stensvold CR, Lebbad M, Clark CG (2012)** Last of the human protists: The phylogeny and genetic diversity of *Iodamoeba*. *Mol Biol Evol* **29**: 39-42
- Yoon HS, Grant J, Tekle YI, Wu M, Chaon BC, Cole JC, Logsdon JM Jr, Patterson DJ, Bhattacharya D, Katz LA (2008)**
Broadly sampled multigene trees of eukaryotes. *BMC Evol Biol* **8**: 14-26
- Zadrobílková E, Walker G, Čepička I (2015a)** Morphological and molecular evidence support a close relationship between the free-living archamoebae *Mastigella* and *Pelomyxa*. *Protist* **166**: 14-41
- Zadrobílková E, Smejkalová P, Walker G, Čepička I (2015b)** Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae) with description of five new species. *J Euk Microbiol*, *in press*. doi:10.1111/jeu.12266