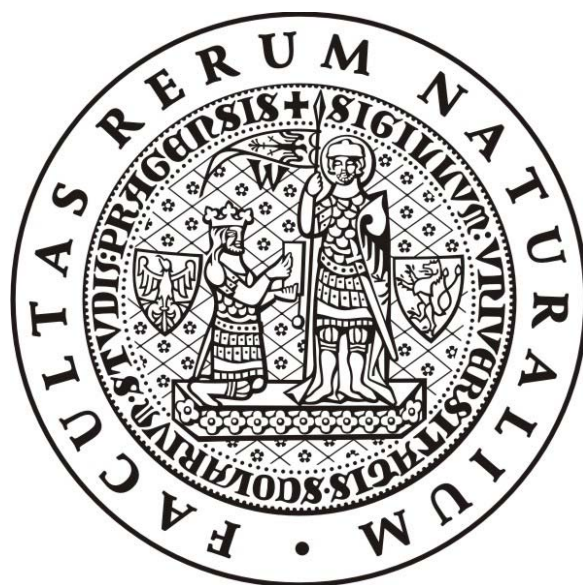


Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Anaerobní nálevníci

Bakalářská práce

Ludmila Nováková

Školitel: RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.
Praha 2009

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli RNDr. Ivanu Čepičkovi, Ph.D za pomoc a užitečné rady při psaní mé bakalářky a dále svým rodičům, kteří mě během mého studia podporovali.

Prohlášení o původnosti práce

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Ivana Čepičky, Ph.D. a že jsem uvedla veškeré použité prameny.

V Praze, 6. 8. 2009

.....

Ludmila Nováková

Obsah

Abstrakt	3
Abstract	4
1. Úvod	5
2. Fylogeneze nálevníků	7
3. Anaerobní nálevníci	10
3.1. Třída Armophorea.....	10
3.2. Třída Litostomatea	11
3.2.1. Podtřída Haptoria	11
3.2.2. Podtřída Trichostomatia.....	11
3.3. Třída Plagiopylea	12
4. Anaerobióza	17
4.1. Hydrogenosom anaerobních nálevníků.....	17
4.2. Hydrogenosom nálevníka Nyctotherus ovalis	17
5. Metanogenní symbionti anaerobních prvoků	19
5.1. Metanogenní archebakterie.....	19
5.2. Metanogeneze	21
6. Životní prostředí anaerobních nálevníků	22
6.1. Volně žijící anaerobní nálevníci	22
6.2. Střevní nálevníci	22
6.2.1. Bachoroví nálevníci	22
6.3. Balantidium jako patogen	23
7. Závěr	24
8. Přehled literatury	24
Sekundární citace:.....	32

Abstrakt

Nálevníci (Ciliata) jsou jednobuněčné eukaryotické organismy, jež náleží do skupiny Alveolata. Systém nálevníků se během posledních let několikrát změnil. Dnes je systém nálevníků založen na struktuře somatické infraciliatury a na makronukleárním cyklu. Nálevníci se dělí na dva podkmeny a jedenáct tříd. Anaerobní (mikroaerofilní) nálevníky nalezneme v rámci tří tříd: Armophorea, Litostomatea a Plagiopylea. Jejich mitochondrie je redukována na hydrogenosom. Hydrogenosom je organela, u které neprobíhá oxidativní, ale pouze substrátová fosforylace. Konečnými produkty metabolismu hydrogenosomu jsou vodík, oxid uhličitý, ATP, acetát, laktát, sukcinát popř. butyrát. Nejlépe prostudovaným anaerobním nálevníkem je *Nyctotherus ovalis*, u kterého tato organela představuje zajímavý přechod mezi „pravou“ mitochondrií a hydrogenosomem, jaký známe třeba u trichomonád. Pro anaerobní nálevníky je charakteristická přítomnost metanogenních archebakterií, jež se vykytují v cytoplazmě právě okolo hydrogenosomů. Tyto bakterie pak využívají vodík pro tvorbu metanu, který je uvolňován do ovzduší. Anaerobní nálevníky nalezneme jak volně žijící (téměř ve všech typech vod, na skládkách, v anaerobních čističkách, např. *Trimyema* nebo *Metopus*), tak v zažívacím traktu živočichů včetně člověka. Zatímco většina endobiotických druhů jsou komenzálové nebo mutualisti (např. *Nyctotherus* nebo bachroví nálevníci), *Balantidium coli* může způsobit smrtelnou chorobu.

Klíčová slova: anaerobióza; *Balantidium coli*; Ciliata; hydrogenosom; metanogenní archebakterie; nálevníci; *Nyctotherus ovalis*

Abstract

Ciliates (Ciliata) are single-celled eukaryotic organisms belonging to the group Alveolata. The system of ciliates has changed during past several years. Nowadays, the system is based on the structure of somatic infraciliature and macronuclear cycle. Ciliates are divided into two subphylla and eleven classes. Anaerobic (microaerophilic) ciliates can be found in three classes: Armophorea, Litostomatea and Plagiopylea. Their mitochondrion is reduced to the hydrogenosome. Hydrogenosomes are organelles in which only substrate phosphorylation occurs. End products of the hydrogenosomal metabolism are hydrogen, carbon dioxide, ATP, acetate, lactate, succinate or butyrate. The most studied anaerobic ciliate is *Nyctotherus ovalis* in which these organelles represent an interesting transition between the "typical" mitochondrion and hydrogenosome as known from trichomonads. Anaerobic ciliates are characterized by the presence of methanogenic archaea in the cytoplasm. These archaeobacteria use hydrogen to form methane, which is then released into the air. Anaerobic ciliates are free-living (in almost all types of water, e.g. *Trimyema* or *Metopus*) or live in the digestive tract of animals including humans. While most endobiotic species are commensals or mutualists (e.g. *Nyctotherus* or rumen ciliates), *Balantidium coli* can cause mortal disease.

Keywords: anaerobiosis; *Balantidium coli*; Ciliata; ciliates; hydrogenosome; methanogenic archaea; *Nyctotherus ovalis*

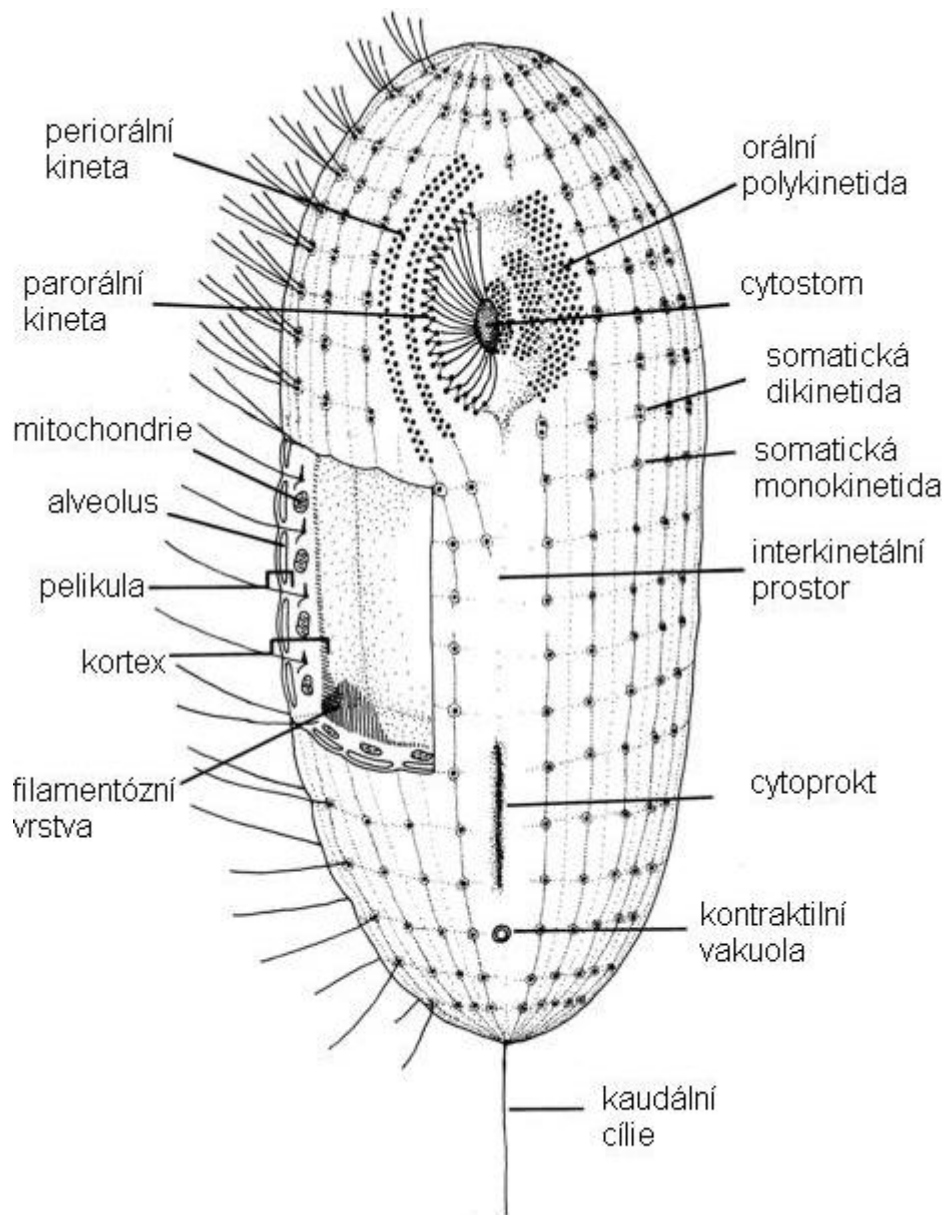
1. Úvod

Nálevníci (Ciliata) jsou jednou z nejznámějších skupin prvoků. Zatím jich bylo popsáno něco kolem 3500 druhů, ale odhaduje se, že jich bude až 30000 druhů (Adl *et al.* 2007). Vyskytují se v hojném počtu téměř ve všech vodních prostředích od oceánů k malým rybníkům, ve špinavých vodách, ale i na souši, nebo parazitují u různých skupin živočichů včetně člověka. Tvar těla je oválný a pokrytý ciliemi (řasinkami), což není nic jiného než bičíky. Ty nálevníkově slouží k pohybu. Potravu přijímají pomocí cytostomu, který je umístěn na konci těla (terminálně) nebo na břišní straně (ventrálně), přes cytopharynx do potravní vakuoly, kde dojde k jejímu zpracování. Zbytky neztrávené potravy pak vycházejí ven cytoproctem.

Stálý tvar těla nálevníka zajišťuje 1 – 4 μm silná podpovrchová vrstva zvaná kortex (Lynn a Small 2002; viz obr. 1). Ta se skládá ze dvou částí: z pelikuly a z ciliárních (kinetidových) kořenů, které tvoří infraciliaturu. Pelikula se skládá z buněčné membrány (plasmalemy) a někdy i z perilemy. Pod plasmalemou se vyskytuje systém membránových alveolů, které hrají hlavní roli při iontové regulaci. Základní složkou infraciliatury jsou kinetidy, jež jsou složeny z kinetosomů (basálních tělísek bičíků). Kinetosomy bývají navzájem propojeny bazálními mikrotubulárními pásy. Podle umístění na buňce nálevníka můžeme rozlišit dvojí ciliaturu (jedná se o typ obrvení, soubor jednotlivých cilií): somatickou (funkce pohybu, senzorická funkce) a orální (získává a zpracovává potravu). Somatická ciliatura se skládá z monokinetid, dikinetid nebo polykinetid a obvykle se vyskytuje po celém těle kromě ústního otvoru. Obvykle bývají tyto kinetidy uspořádané do podélných řad, které nazýváme kinety. Jejich pravidelné uspořádání ale bývá přerušeno v orální oblasti. Orální ciliatura je také tvořena z monokinetid, dikinetid nebo polykinetid, ale na rozdíl od somatické ciliatury jsou kinetidy navzájem propojeny fibrilami. Orální kinetidy se navzájem propojují pomocí mikrotubulů a mikrofilament a vytváří tak společně s cytostomem a cytofaryngem orální aparát. V osmdesátých letech 20. století orální ciliatura sloužila jako hlavní morfologický znak a podle ní se nálevníci zařazovali do jednotlivých skupin.

Dalším charakteristickým znakem nálevníků je jaderný dualismus a konjugace (typ pohlavního rozmnožování). V každé buňce nálevníka najdeme velký makronukleus (jeden nebo více) a malý mikronukleus (může jich být také několik). Makronukleus je polyploidní (aneuploidní), je místem syntézy RNA a zajišťuje genovou expresi. Na rozdíl od makronukleu je mikronukleus diploidní a uplatňuje se při rozmnožování, při konjugaci. Protože pouze mikronukleus se může mitoticky nebo meioticky dělit. Obsahuje normální eukaryotické chromosomy a tvoří se intranukleární dělicí vřetenko, což u makronukleu

nenalezneme. Makronukleus se vyvíjí z mikronukleu a dělí se tzv. amitózou, kdy je genetický materiál mezi dceřinými makronukleji rozdělen víceméně náhodně. Při amitóze se nevytváří typické dělicí vřeténko, byly však objeveny intra- (Intramacronucleata) a extranukleární (Heterotrichea) mikrotubuly. Přesný průběh amitózy nebyl dosud podrobně prozkoumán. Kromě nepohlavního dělení se nálevníci rozmnožují pomocí konjugace. Jedná se o sexuální proces, při kterém se spojují dvě buňky téhož druhu nálevníka. Během tohoto spojení dojde ke vzájemné výměně haploidních jader a po skončení výměny se buňky od sebe oddělí. Složitá stavba kortexu, jaderný dualismus a konjugace jsou charakteristickými znaky, podle kterých lze o určitém organismu prohlásit, že se jedná o nálevníka.



Obr. 1. Morfologie buňky nálevníka (Lynn a Small 1990).

2. Fylogeneze nálevníků

Během let se systém nálevníků několikrát zásadně změnil. V minulém století byl postupně vytvořen systém nálevníků na základě orální ciliatury. Podle její složitosti se rozlišovaly tři třídy. Do třídy **Kinetofragminophorea** patřily formy, jejichž orální ciliatura je jen slabě odlišná od somatické ciliatury a je odvozena z apikálních částí somatických kinet. Třída **Oligohymenophorea** má kromě astomátních nálevníků orální aparát dobře vyvinutý. Orální ciliatura je zcela odlišná od somatické ciliatury. Skládá se z periorální membrány na pravé straně a z malého počtu (obvykle tři) membranel na levé straně. U třídy **Polyhymenophorea** je orální aparát tvořen mnoha složitými membranelami, somatická ciliatura může být normálně vyvinuta, redukována nebo zcela přeměněná na ciry. Systém založený na orální ciliatuře a ontogenezi orálního aparátu dosáhl vrcholu v 80. letech 20. století (Corliss *et al.* 1980).

Hned od počátku byl tento přístup kritizován s tím, že orální ciliatura podléhá silným selekčním tlakům a častým konvergencím (např. Lynn 1979, 1981). Byly vytvořeny nové třídy nálevníků (Lynn a Corliss 1991, citováno v Baroin-Tourancheau *et al.* 1992). První molekulárně-fylogenetické studie nálevníků skutečně ukázaly, že třídy Kinetophragminophorea a Polyhymenophorea jsou polyfyletické (např. Baroin-Tourancheau *et al.* 1992; Bernhard *et al.* 1995; Hirt *et al.* 1995; Stechmann *et al.* 1998). Corlissův systém tří tříd byl zcela opuštěn a postupně nahrazen systémem s dvěma podkmeny a jedenácti třídami (Lynn 2003; viz obr. 2). Tento v současnosti používaný systém je založen na makronukleárním cyklu a na struktuře tentokrát somatické infraciliatury, tj. struktury somatických kinetid (viz tab. 1). O somatické infraciliatuře se soudí, že méně podléhá konvergencím než orální infraciliatura. Soudobé molekulárně-fylogenetické analýzy potvrzují přirozenost jednotlivých tříd (např. Wright *et al.* 1997; van Hoek *et al.* 1998; Affa' A *et al.* 2004; Strüder-Kypke *et al.* 2006; Stoeck *et al.* 2007; Cho *et al.* 2008).

Nejdůležitějším morfologickým znakem podkmene **Postciliodesmatophora** jsou postciliodesmy, známé též jako Km-fibrily. Jedná se o spojené mikrotubulární svazky vznikající tak, že postciliární mikrotubuly míří dozadu a překrývají ty, které přicházejí zepředu. Třída Karyorelictea má makronukleus, který se nedělí a u třídy Heterotrichea se makronukleus dělí pomocí extranukleárních (mimojaderných) mikrotubulů. U podkmene **Intramacronucleata**, který obsahuje většinu zástupců, se makronukleus dělí pomocí intranukleárních (vnitrojaderných) mikrotubulů, i když jejich role nebyla dosud plně objasněna a právě dělicí vřetenko není vytvořeno. U jednoho zástupce řazeného do tohoto

podkmene (rod *Protocruzia*) se také vyskytují postciliodesmy (Lynn 2003). Jednotlivé třídy podkmene Intramacronucleata se obvykle odlišují strukturou somatické infraciliatury.

Systém nálevníků bohužel není ještě na sto procent ustálený a během let můžeme očekávat novinky, jenž tento v současné době používaný systém pozmění nebo upevní. Je to dáno tím, že průběh fylogeneze nálevníků byl studován pouze pomocí analýzy genu pro SSU rRNA. Od devadesátých let se ale zájem vědců zaměřil na ověřování fylogenetických vztahů pomocí dalších genů, jako je např. EF-1 α (Moreira *et al.* 1999).

Tab. 1. Současný systém kmene nálevníků. Podle Lynn 2003.

Podkmen 1. Postciliodesmatophora.

Třída 1. Karyorelictea

Třída 2. Heterotrichea

Podkmen 2. Intramacronucleata

Třída 3. Spirotrichea (podtřída 1. Protocruziidia, podtřída 2. Phacodiniida, podtřída 3. Hypotrichia, podtřída 4. Oligotrichia, podtřída 5. Choreotrichia, podtřída 6. Stichotrichia, podtřída 7. Licnophoria)

Třída 4. Armophorea

Třída 5. Litostomatea (podtřída 1. Haptoria, podtřída 2. Trichostomatia)

Třída 6. Phyllopharyngea (podtřída 1. Phyllopharyngia, podtřída 2. Rhynchodia, podtřída 3. Chonotrichia, podtřída 4. Suctoria)

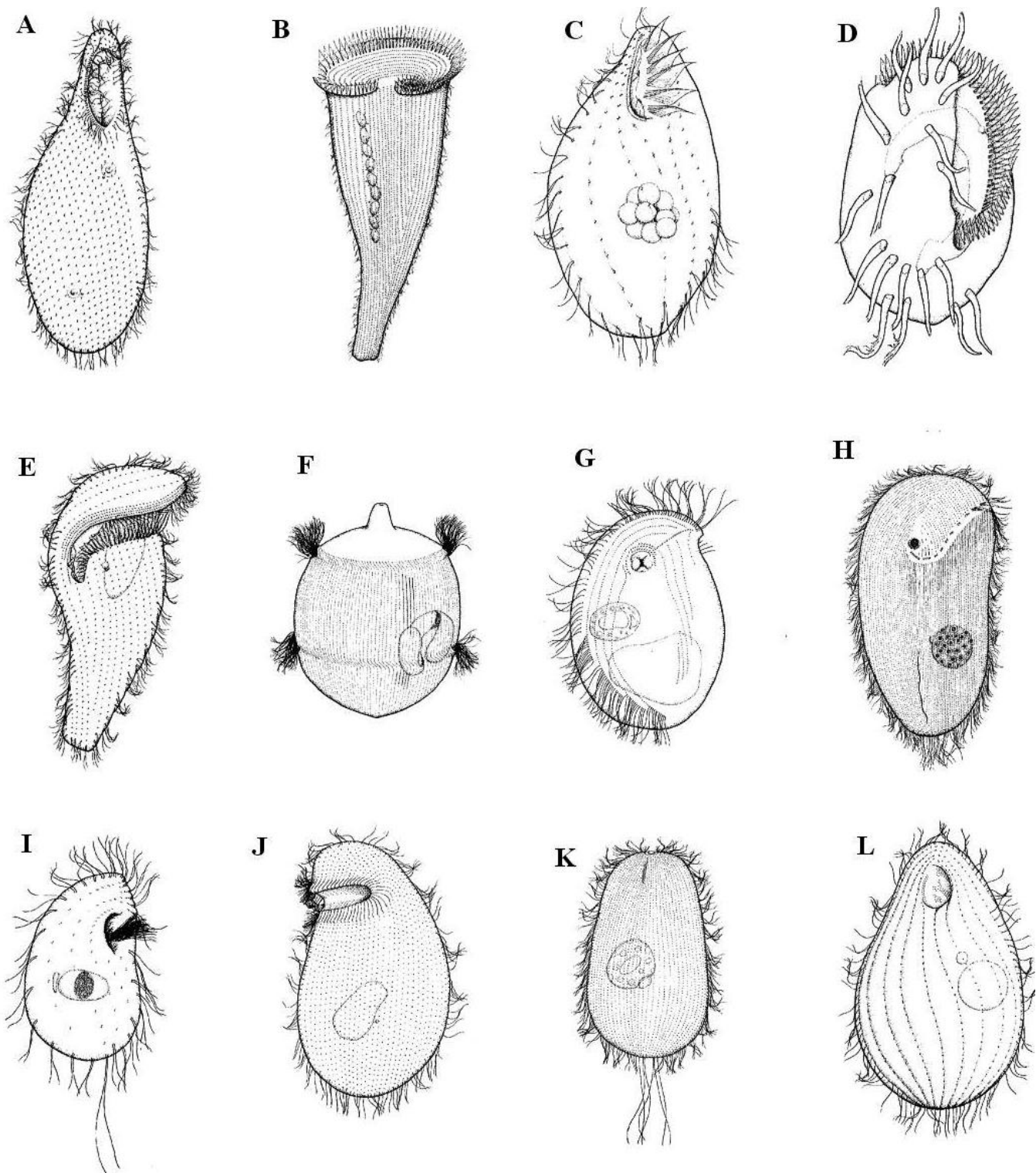
Třída 7. Nassophorea

Třída 8. Colpodea

Třída 9. Prostomatea

Třída 10. Plagiopylea

Třída 11. Oligohymenophorea (podtřída 1. Peniculia, podtřída 2. Scuticociliatia, podtřída 3. Hymenostomatia, podtřída 4. Apostomatia, podtřída 5. Peritrichia, podtřída 6. Astomatia)



Obr. 2. Ukázky zástupců jednotlivých tříd nálevníků. Podle Lynn (2003). **A:** *Loxodes* (*Karyorelictea*); **B:** *Stentor* (*Heterotrichea*); **C:** *Protocruzia* (*Spirotrichea*); **D:** *Euplotes* (*Spirotrichea*); **E:** *Metopus* (*Armophorea*); **F:** *Didinium* (*Litostomatea*); **G:** *Chilodonella* (*Phyllopharyngea*); **H:** *Obertrumia* (*Nassophorea*); **I:** *Colpoda* (*Colpodea*); **J:** *Plagiopyla* (*Plagiopylea*); **K:** *Holophrya* (*Prostomatea*); **L:** *Tetrahymena* (*Oligohymenophorea*).

3. Anaerobní nálevníci

Většina nálevníků žije v prostředí s přístupem kyslíku. Ale existují i výjimky. Známe rody (např. *Metopus*, *Nyctotherus*, *Plagiopyla*, *Trimyema*), které mohou obývat prostředí buď s přístupem velmi malého množství kyslíku, nebo úplně bez kyslíku. Místo mitochondrie mají hydrogenosom, zvláštní organelu, která produkuje vodík a ATP. Kromě zástupců této skupiny známe i jiné eukaryotické organismy vyskytující se v takovémto prostředí, například anaerobní houby (některé chytridiomycety) nebo skupinu Parabasala (trichomonády). Předpokládáme, že předek nálevníků byl aerobní a během evoluce došlo třikrát k přechodu na anaerobní způsob života. Anaerobní nálevníci náleží do tří tříd Armophorea, Litostomatea a Plagiopylea (viz obr. 3).

3.1. Třída Armophorea

Fylogenetická pozice armoforeí byla dlouho záhadná. Byli řazeni ke spirotricheím nebo jako Ciliophora *incertae sedis* (McGrath *et al.* 2007). Navíc, dva řády armoforeí, tj. Armophorida a Clevelandellida, byly dlouho řazeny na různá místa systému nálevníků. Až v roce 2003 byly na základě somatických kinetid tyto dva taxony přiřazeny k sobě do jedné třídy (Lynn 2003). To bylo potvrzeno na základě molekulárně-fylogenetických studií (Affa'a *et al.* 2004; Šlapeta *et al.* 2005). Stejně jako u třídy Plagiopylea se jedná o „riboclass“ skupinu (tj. skupinu, jejíž monofylie je podporována molekulárně-fylogenetickými studii genu pro SSU rRNA, ne však morfologickými znaky).

Armophorea můžeme rozdělit do dvou monofyletických řádů, Armophorida a Clevelandellida (viz tab. 2). Jedná se o volně žijící nebo endosymbiotické nálevníky a v cytoplasmě okolo jejich hydrogenosomu můžeme zpozorovat metanogenní endosymbionty (např. Gijzen *et al.* 1991; Embley *et al.* 1992).

Zástupci řádu **Armophorida** mají tělo většinou stočené doleva, podél ústního okraje mají 3 – 5 periorálních somatických kinetid (Adl *et al.* 2005). Somatická ciliatura je holotrichní (tělo je rovnoměrně pokryto řasinkami) a proto se tyto nálevníky často zařazovali do třídy Heterotrichea, se kterou však třída Armophorea není blíže příbuzná (Lynn 2008). Náleží sem například rody *Metopus* nebo *Caenomorpha* (viz tab. 2).

Představitelé řádu **Clevelandellida** jsou hustě pokrytí řasinkami, jejich tělo je většinou na bocích zploštělé s mnoha orálními polykinetidami po levé straně (Lynn 2008). Jedná se o komenzály žijící v širokém spektru hostitelů. Patří sem *Nyctotherus*, *Nyctotheroides*, *Clevelandella* a další (viz tab. 2). Tento řád byl ve starším taxonomickém systému popisován

jako podřád Clevelandellina, který spadal do třídy Polyhymenophorea (Corliss 1980). Součástí tohoto podřádu byl i jeden zástupce (*Metopus*), který je ale dnes zařazován do samostatné čeledi řádu Armophorida (viz tab. 2).

3.2. Třída Litostomatea

Jako samostatná třída byla skupina Litostomatea zařazena do systému až v roce 1991 (Lynn a Corliss 1991, citováno v Baroin-Tourancheau *et al.* 1992). Jedná se o monofyletickou skupinu, která je silně podporována molekulárně-fylogenetickými studiemi (Strüder-Kypke *et al.* 2006; Gao *et al.* 2008). Zahrnuje takové zástupce (*Didinium*, *Balantidium*, *Isotricha* atd.), jejichž somatická ciliatura je tvořena monokinetidami se dvěma příčnými pásy mikrotubulů, jež se objevují přechodně během replikace (Lynn 2003). Dnes můžeme Litostomatea najít jako součást podkmene Intramacronucleata a dělí se na dvě podtřídy Haptoria a Trichostomatia (viz tab. 2).

3.2.1. Podtřída Haptoria

Jedná se o parafyletickou skupinu kde nalezneme volně žijící zástupce. Na rozdíl od podtřídy Trichostomatia se ale zástupci haptorií vyskytují v aerobním prostředí a okolo orálního aparátu mají toxycysty. Ty jim slouží jako obrana proti predátorům a podílí se na chytání kořisti (Gao *et al.* 2008). Haptoria jsou často predátoři jiných nálevníků. Proto mají redukovanou a málo rozlišenou orální ciliaturu a v minulosti byli řazeni do podtřídy Gymnostomatia třídy Kinetofragminophorea (Corliss 1980). V roce 1991 byli společně s podtřídou Trichostomatia zařazeni do třídy Litostomatea (Lynn a Corliss 1991, citováno v Baroin-Tourancheau *et al.* 1992), kam patří dodnes (viz tab. 1).

3.2.2. Podtřída Trichostomatia

Podtřída Trichostomatia je monofyletický taxon. Organismy této podtřídy žijí jako endosymbionti v zažívacím traktu mnohých herbivorních živočichů (Wright *et al.* 1997). Pro zástupce této podtřídy je charakteristický vnořený cytostom a absence toxicyst (Strüder-Kypke *et al.* 2006). Orální ciliatura těchto nálevníků je hustá, bazální tělíska mohou být organizována do polykinetid (Adl *et al.* 2005). V roce 1980 byli začleňováni do systému jako řád Trichostomatida, který patřil do podtřídy Vestibuliferia třídy Kinetofragminophorea, tedy jinam než Haptoria (Corliss 1980).

3.3. Třída Plagiopylea

Jedná se o monofyletickou skupinu, která je blízce příbuzná skupinám Oligohymenophorea a Prostomatea (Lynn a Strüder-Kypke. 2002; Cho *et al.* 2008). Společně se třídou Armophorea jde o „riboclass“ skupinu, která je sice silně podporovaná analýzami genu pro SSU rRNA (Lynn a Strüder-Kypke 2002), ale jejich kinetidy nemůžeme použít jako diagnostický znak pro tuto skupinu (Lynn 2003). Nálevníci z této skupiny mají somatickou infraciliaturu tvořenou z monokinetid. Jejich orální ciliatura je velmi jednoduchá. Skládá se v podstatě ze somatických kinet, které se rozšiřují do ústní dutiny nálevkovitého tvaru nebo do vestibulu (Adl *et al.* 2005). Zástupci této třídy mají v sobě vždy metanogenní endosymbionty (např. Shinzato *et al.* 2007).

Do této skupiny náleží rod *Trimyema* (viz tab. 2). Jeho pozice v systému byla dlouho nejasná. Nejdříve byla řazena do třídy Prostomatea, vzhledem k apikálnímu orálnímu aparátu, který je charakteristický pro tuto třídu (Serrano *et al.* 1988). Poté ji přeřadili do třídy Oligohymenophorea (Nerad *et al.* 1995, citováno v Baumgartner *et al.* 2002) a až v roce 2002, na základě sekvence genu SSU rRNA, ji přesunuli do třídy Plagiopylea (Baumgartner *et al.* 2002). Zástupce tohoto rodu můžeme nalézt v termofilních vodách (*Trimyema minutum*) (Baumgartner *et al.* 2002) nebo v hypersalinních vodách (*Trimyema koreanum*) (Cho *et al.* 2008).

V roce 2007, na základě analýzy genu pro SSU rRNA (Stoeck *et al.* 2007), došlo k umístění řádu Odontostomatida do třídy Plagiopylea. Do té doby zůstávali monofyletickou skupinou nálevníků, která patřila do řádu Heterotrichida a později byla s dalšími druhy, označované jako *incertae sedis*, umístěna do nové třídy Armophorea. Všichni zástupci skupiny Odontostomatida jsou anaerobní, vyskytují se hojně v sedimentech sladkovodních nádrží a stejně jako u ostatních zástupců třídy Plagiopylea se u nich vyskytují metanogenní endosymbionti (Stoeck *et al.* 2007).

Tab. 2. Systematický přehled anaerobních nálevníků. Podle Lynn (2002). Doplněno o změny ve třídách Plagiopylea (Stoeck et al. 2007) a Litostomatea (Ito et al. 2006).

Třída Armophorea

Řád Armophorida

Čeleď Caenomorphidae (rody *Caenomorpha*, *Cirranter*, *Ludio*)

Čeleď Metopidae (rody *Bothrostoma*, *Brachonella*, *Eometopus*, *Metopus*, *Palmarela*, *Parametopus*, *Spirorhynchus*, *Tesnospira*, *Tropidoattractus*)

Řád Clevelandellida

Čeľad Clevelandellidae (rody *Clevelandella*, *Metaclevelandella*, *Paraclevelandia*)

Čeľad Inferostomatidae (rod *Inferostoma*)

Čeľad Neonyctotheridae (rod *Neonyctotherus*)

Čeľad Nyctotheridae (rody *Cichlidotherus*, *Metanyctotherus*, *Nyctositum*, *Nyctotheroides*, *Nyctotherus*, *Paracichlidotherus*, *Pronyctotherus*, *Pygmothroides*)

Čeľad Sicuophoridae (rody *Geimania*, *Metasicuophora*, *Parasicuophora*, *Prosicuophora*, *Sicuophora*)

Třída Litostomatea

Podtřída Haptoria *

Řád Cyclotrichida

Čeľad Mesodiniidae (rody *Askenasia*, *Mesodinium*, *Myrionecta*, *Pelagovasicola*, *Rhabdoaskenasia*)

Řád Haptorida

Čeľad Acropisthiidae (rody *Acropisthium*, *Fuscheria*)

Čeľad Actinobolinidae (rody *Actinobolina*, *Belonophrya*, *Dactylochlamys*, *Legendrea*)

Čeľad Didiniidae (rody *Astrostoma*, *Choanostoma*, *Cyclotrichium*, *Didinium*, *Dinophrya*, *Liliomorpha*, *Monodinium*, *Zonotrichium*)

Čeľad Enchelyidae (rody *Crobylura*, *Enchelydium*, *Enchelys*, *Haematophagus*, *Ileonema*, *Lagynurus*, *Longitricha*, *Microregma*, *Nannophrya*, *Papillorhabdos*, *Pithothorax*, *Quasillagilis*, *Rhopalophrya*, *Schewiakoffia*, *Spasmotoma*, *Sphaerobactrum*, *Thalassiomastix*)

Čeľad Helicoprodontidae (rod *Helicoprorodon*)

Čeľad Homalozoonidae (rod *Homalozoon*)

Čeľad Lacrymariidae (rody *Lacrymaria*, *Phialina*)

Čeľad Pleuroplitidae (rod *Pleuroplites*)

Čeľad Pseudoholophryidae (rody *Ovalorhabdos*, *Paraenchelys*, *Pseudoholophrya*)

Čeľad Pseudotrachelocercidae (rod *Pseudotrachelocerca*)

Čeľad Spathidiidae (rody *Arcuopathidium*, *Bryophyllum*, *Cranotheridium*, *Diceratula*, *Epispathidium*, *Lacerus*, *Micromidas*, *Myriokaryon*, *Penardiella*, *Perispira*, *Protopathidium*, *Spathioides*, *Spathioides*, *Spathidiosus*, *Spathidium*, *Supraspathidium*, *Thysanomorpha*)

Čeľad Tracheliidae (rody *Branchiocetes*, *Dileptus*, *Dimacrocaryon*, *Micruncus*, *Monilicaryon*, *Paradileptus*, *Rimaleptus*, *Teuthophrys*, *Trachelius*)

* Podtřída Haptoria zahrnuje pouze aerobní organismy

Čeleď Trachelophyllidae (rody *Acaryophrya*, *Chaenea*, *Enchelyodon*, *Foissnerides*, *Lagynophrya*,
Lepidotrachelophyllum, *Trachelophyllum*)

Řád Pleurostomatida

Čeleď Amphileptidae (rody *Amphileptus*, *Opisthodon*, *Pseudoamphileptus*)

Čeleď Litonotidae (rody *Acineria*, *Heminotus*, *Litonotus*, *Loxophyllum*, *Siroloxophyllum*)

Čeleď Protohalliidae (rod *Protohallia*)

Podtřída Trichostomatia

Řád Vestibuliferida

Čeleď Balantidiidae (rod *Balantidium*)

Čeleď Isotrichidae (rody *Bitricha*, *Dasytricha*, *Isotricha*, *Protoisotricha*)

Čeleď Paraisotrichidae (rody *Enterophrya*, *Paraisotrycha*, *Rhizotricha*)

Čeleď Pycnotrichidae (rody *Collinina*, *Infundibulorium*, *Nicollella*, *Pycnothrix*, *Vestibulongum*)

Čeleď Protocaviellidae (rody *Hydrochoerella*, *Protocaviella*)

Řád Entodiniomorphida

Podřád Archistomatina

Čeleď Buetschliidae (rody *Alloiozona*, *Ampullacula*, *Amylophorus*, *Blepharocodon*,
Blepharoconus, *Blepharomonas*, *Blepharoplanum*, *Blepharoposthium*,
Blepharosphaera, *Blepharozoum*, *Buetschlia*, *Buissonella*, *Bundleia*,
Cucurbella, *Didesmis*, *Hemiprorodon*, *Holophryoides*, *Holophryozoon*,
Kopperia, *Levanderella*, *Meiostoma*, *Paraisotrichochopsis*, *Pingius*,
Polymorphella, *Prorodonopsis*, *Protolutzia*, *Pseudobuetschlia*, *Sciurula*,
Sulcoarcus, *Wolskana*)

Podřád Blepharocorythina

Čeleď Blepharocorythidae (rody *Blepharocorys*, *Charonina*, *Charonnautes*, *Circodinium*,
Ochoterenaia, *Pararaabena*, *Raabena*, *Spirocorys*)

Podřád Entodiniomorphina

Čeleď Cycloposthiidae (rody *Bertolinella*, *Bozasella*, *Cycloposthium*, *Diplolophus*, *Lavierella*,
Toxodinium, *Tricaudalia*, *Trifascicularia*, *Tripalmaria*, *Triplumaria*)

Čeleď Prototapirellidae (rod *Prototapirella*)

Čeleď Ditoxidae (rody *Ditoxum*, *Tetratoxum*, *Triadinium*)

Čeleď Macropodiniidae (rod *Macropodinium*)

Čeleď Ophryoscolecidae (rody *Caloscolex*, *Campylodinium*, *Cunhaia*, *Diplodinium*,
Diploplastron, *Elytroplastron*, *Enoploplastron*, *Entodinium*, *Eodinium*,
Epidinium, *Epiplastron*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium*,
Ophryoscolex, *Opisthotrichium*, *Ostracodinium*, *Polyplastron*)

Čeleď Polydiniellidae (rody *Elephantophilus*, *Polydiniella*, *Pterodinium*, *Thoracodinium*)

Čeleď Rhinozetidae (rod *Rhinozeta*)

Čeleď Spirodiniidae (rody *Cochliatoxum*, *Spirodinium*)

Čeleď Telamodiniidae (rody *Megadinium*, *Telamodinium*, *Teratodinium*)

Čeleď Troglodytellidae (rody *Gorillophilus*, *Troglodytella*)

Čeleď Gilchristidae (rody *Gilchristia*, *Digilchristia*)

Třída Plagiopylea

Řád Plagiopylida

Čeleď Plagiopylidae (rody *Lechriopyla*, *Paraplagiopyla*, *Plagiopyla*, *Pseudoplagiopyla*)

Čeleď Sonderiidae (rody *Parasonderia*, *Sonderia*, *Sonderiella*)

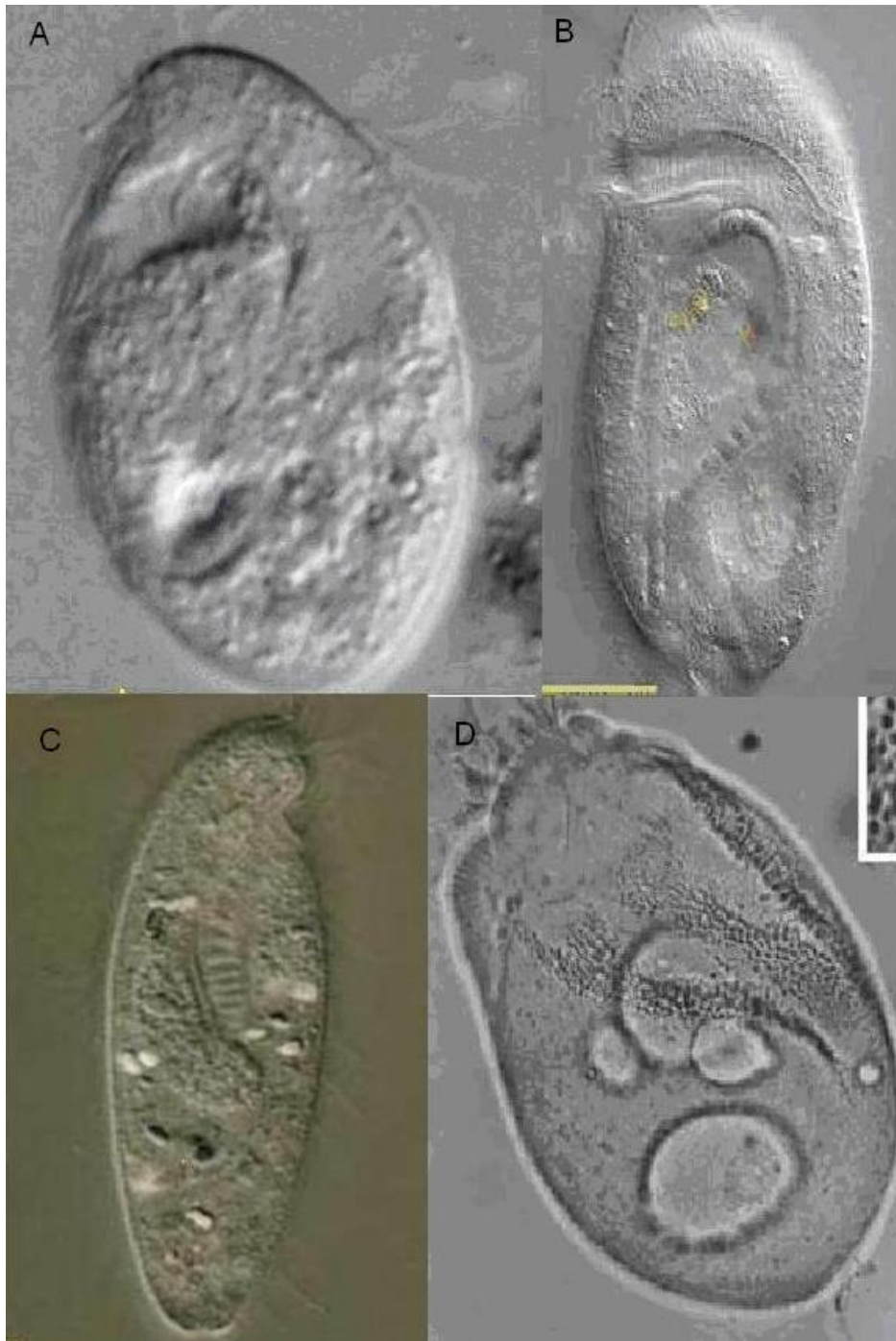
Čeleď Trimyemidae (rod *Trimyema*)

Řád Odontostomatida

Čeleď Discomorphellidae (rod *Discomorphella*)

Čeleď Epalxellidae (rody *Atopodinium*, *Epalxella*, *Pelodinium*, *Saprodinium*)

Čeleď Mylestomatidae (rod *Mylestoma*)



Obr. 3. Ukázky anaerobních nálevníků. **A:** Trimyema (*Plagiopylea*) (tolweb.org/images/Alveolates/2379); **B:** Plagiopylea (*Plagiopylea*) (eol.org/pages/2914984); **C:** Brachonella (*Armophorea*) (eol.org/pages/2909113); **D:** Epidinium (*Litostomatea*) (www.microscopy-uk.org.uk/mag/artnov03/dfrumen.html).

4. Anaerobióza

Na zemi, kromě aerobních organismů, které nedokáží existovat bez kyslíku, žijí i takové, pro které je kyslík toxický. Takovéto organismy nazýváme anaeroby a prostředí je anaerobní. U těchto organismů nacházíme redukovanou mitochondrii, která je specializovaná právě na život bez kyslíku – hydrogenosom nebo mitosom (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, mikrosporidie apod.). U anaerobních nálevníků je to hydrogenosom, ale ví se o něm mnohem méně než o hydrogenosomu trichomonád nebo chytridiomycet.

4.1. Hydrogenosom anaerobních nálevníků

Hydrogenosom je specializovaná organela eukaryotních organismů, jejichž metabolismus probíhá v anaerobních podmínkách bez oxidativní fosforylace a konečným produktem není voda, jak to známe u aerobních mitochondrií, ale vodík. Teorie vzniku hydrogenosomu předpokládá, že s mitochondriemi mají společného jednoho předka (Hackstein *et al.* 1999). Dnes se zdá být jisté, že původ hydrogenosomu je polyfyletický a že vznikl u různých skupin prvoků několikrát nezávisle na sobě (Dyall a Johnson. 2000). Byl nalezen například u skupin Parabasala (trichomonády), Ciliata (nálevníci) a u anaerobních chytridiomycet (Roger 1999). Ale jednotlivé hydrogenosomy se u různých skupin prvoků od sebe navzájem strukturně a metabolicky liší (Boxma *et al.* 2005).

Stejně jako mitochondrie hydrogenosom má dvojistou membránu, vnitřní membrána může vytvářet krusty. Je velký kolem 1 μ m a při jeho energetickém metabolismu dochází k produkci ATP (méně než u mitochondrie) (Bui *et al.* 1996; Martin 2005). Zatím, až na výjimku (*Nyctotherus ovalis*), nebyla v hydrogenosomu u anaerobních nálevníků pozorována DNA, která tam nejspíše bude, ale zatím ji nikdo nehledal. Na rozdíl od mitochondrie je však přítomna hydrogenáza a pyruvát-ferredoxin oxidoreduktáza (Dyall *et al.* 2000). Uvnitř hydrogenosomu dochází k rozkladu pyruvátu buďto na acetát, laktát, sukcinát popřípadě butyrát a dále vzniká oxid uhličitý a molekulární vodík (Yarlett *et al.* 1985; Ellis *et al.* 1991; Tielens *et al.* 2002).

4.2 Hydrogenosom nálevníka *Nyctotherus ovalis*

Nyctotherus ovalis žijící ve střevě švábů, je zatím jediný druh nálevníka, u kterého byl hydrogenosom velmi dobře prozkoumán (van Hoek *et al.* 1998). Jedná se o mitochondriální derivát, který představuje unikátní přechod mezi „pravou“ mitochondrií a hydrogenosomem, jak ho známe třeba u trichomonád (Dyall *et al.* 2000). Hydrogenosom *N. ovalis* vypadá sice

jako mitochondrie, ale na rozdíl od ní je obklopený metanogenními archebakteriemi a liší se od ní svým energetickým metabolismem (van Hoek *et al.* 2000).

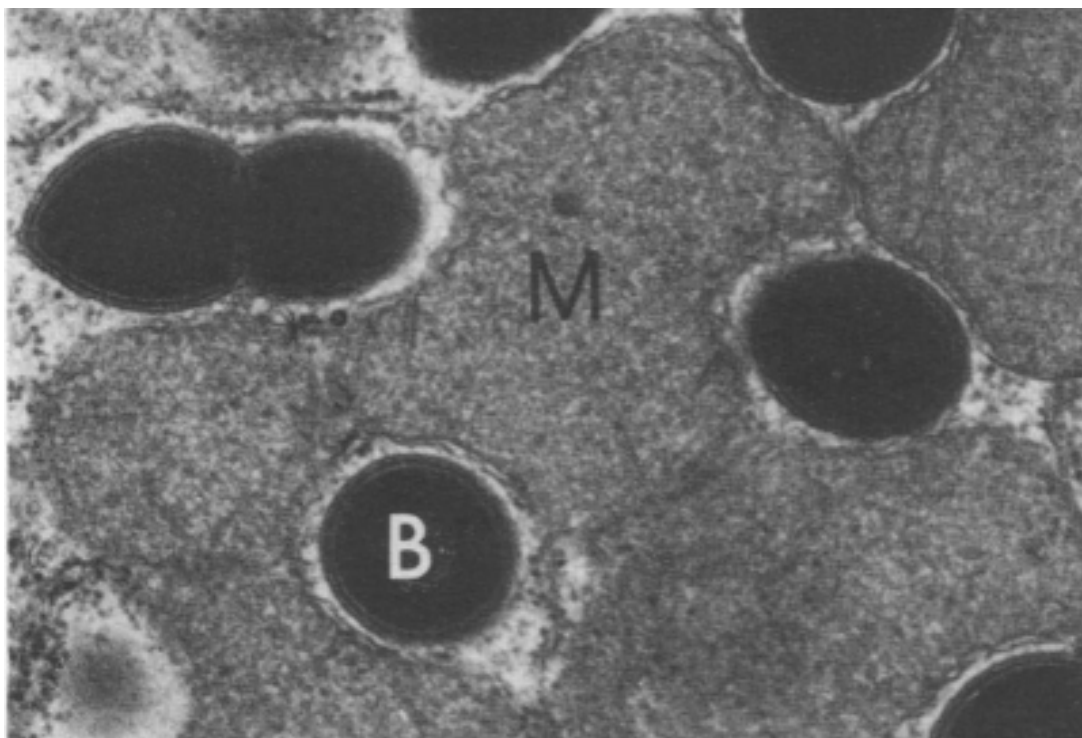
Hydrogenosom *N. ovalis* obsahuje genom a v jeho vnitřní membráně, která vytváří kristy, je přítomen lipid kardiolipin, což jsou typické znaky pro „pravé“ mitochondrie (Boxma *et al.* 2005). Jeho genom kóduje ribosomální proteiny a dva komponenty dýchacího řetězce, komplex I a II. Byly i identifikovány geny, jež zřejmě kódují enzymy Krebsova cyklu, jako je malát dehydrogenáza, sukcinát dehydrogenáza, sukcinyl-CoA syntetáza či α -ketoglutarát dehydrogenáza. (Boxma *et al.* 2005; Hackstein *et al.* 2006). Hydrogenosom je citlivý na inhibitory mitochondriálního komplexu I a II. Tyto mitochondriální komplexy produkují sukcinát jako hlavní konečný metabolický produkt. Stejnou biochemickou vlastností (produkce sukcinátu) disponují i anaerobní mitochondrie, např. u druhu *Euglena gracillis* (Rotte *et al.* 2001). Mimo sukcinátu může v hydrogenosomu vznikat z pyruvátu i malé množství acetátu (Tielens *et al.* 2002). Na obrázku 4 můžeme vidět, jak pravděpodobně probíhá energetický metabolismus druhu *Nyctotherus ovalis*.

V hydrogenosomu druhu *Nyctotherus ovalis* nalezneme neobvyklou hydrogenázu. Jedná se o polyprotein (translační produkt štěpený posttranslačně proteázami na jednotlivé funkční proteiny), který se skládá z Fe-Fe hydrogenázy a ze dvou podjednotek komplexu I (Boxma *et al.* 2007). Tato hydrogenáza zřejmě spojuje fermentativní glukózový metabolismus se základními komponenty mitochondriálního přenosu elektronů (Akhmanova *et al.* 1998). Hydrogenáza tak potenciálně dovoluje reoxidaci redukovaného NAD(P) v komplexu I a dochází k ukládání zásobní energie, která se později využívá k vypuzení protonů. Ty dávají vzniknout molekulárnímu vodíku (Hackstein *et al.* 1999). U hydrogenosomu rodu *Blastocystis* (Stramenopiles, Chromalveolata), jenž se vyskytuje v anaerobním prostředí, došlo ke konvergentní evoluci. U obou hydrogenosomů nalezneme totiž podobné znaky. Hydrogenosom rodu *Blastocystis* má také svoji DNA, dva komponenty dýchacího řetězce, Fe-Fe hydrogenázu a jeho vnitřní membrána vytváří kristy (Stechmann *et al.* 2008).

například mokřady, oceány, půdy nebo odpadní vody (van Hoek *et al.* 2000). Metanogenní archebakterie společně s nálevníky žijí v endosymbiotickém vztahu (Vogels *et al.* 1980) a vyskytují se v cytoplasmě okolo nálevníkového hydrogenosomu (Görtz 2001; viz obr. 5). Tato symbióza byla poprvé popsána u bachorových nálevníků (Stumm *et al.* 1982).

Přítomnost metanogenů je indikována enzymem metyl-koenzym M reduktázou (mcrA), nálevníci vlastní metanogenní metabolismus nemají a nemohou tedy tento enzym produkovat. Metyl-koenzym M reduktáza je přítomna ve všech metanogenních archebakteriích a je důležitá pro konečnou fázi metanogeneze, kde se podílí na snížení počtu metylových skupin vázající se na koenzym M (Thauer 1998). Pokud najdeme v nálevnicích tento enzym, víme s jistotou, že jsou zde přítomné i metanogenní bakterie (Denman *et al.* 2007). Jiným důkazem přítomnosti metanogenů v nálevníkově představuje například značná produkce metanu u švába. Ten jej posléze využívá jako shromažďovací feromon (Gijzen *et al.* 1991).

Metanogenní archebakterie jsou známy pro svoji hostitelskou specifitu (van Hoek *et al.* 2000). Je to dáno jejich vertikálním přenosem. Při dělení buňky nálevníka dochází k náhodnému rozdělení metanogenních archebakterií do dvou dceřiných buněk-archebakterie jsou přenášeny vertikálně. Hostitelskou specifitu dokazují i další studie, které popisují archebakterie u různých skupin anaerobních nálevníků. Například u dvou příbuzných zástupců rodu *Metopus*, druhy *Metopus palaeformis* a *Metopus contortus* nalezneme endosymbiotické bakterie, které sice patří do stejného rodu *Methanobacterium*, ale jsou od sebe navzájem odlišné (Embley *et al.* 1992). Stejně jako u rodu *Metopus*, tak i u rodu *Trimyema* byly pozorovány rozdílné archebakterie. U druhu *Trimyema* sp. se jedná o symbionta blíže příbuzného volně žijícímu metanogenu *Methanocorpusculum parvum* (Finlay *et al.* 1993) a u druhu *Trimyema compressum* jde o zástupce blíže příbuzného druhu *Methanobrevibacter arboriphilicus* (Shinzato *et al.* 2007). Dalšími popsány archebakteriemi jsou například endosymbionti rodu *Methanobrevibacter*, již se primárně vyskytují v cytoplasmě druhu *Nyctotherus ovalis* (Gijzen *et al.* 1991; Gijzen a Barugahare 1992).



Obr. 5. Endosymbiotické bakterie (B) okolo hydrogenosomu (M) druhu *Nyctotherus ovalis*. Podle Gijzen *et al.* (1991).

5.2 Metanogeneze

Metanogenní archebakterie (jak ty co žijí v nálevnicích, tak i ty co žijí volně v prostředí) využívají elektrony získané z vodíku (a někdy i z kyseliny mravenčí) k redukci oxidu uhličitého na metan a vodu. Tento proces nazýváme metanogeneze (Hungate *et al.* 1970). Metan, který vzniká při tomto procesu, se potom uvolňuje jako jeden ze skleníkových plynů do atmosféry.

Závislost mezi výdejem metanu a počtem nálevníků zatím sice nebyla prokázána (van Hoek *et al.* 2006), ale můžeme očekávat výrazné rozdíly ve tvorbě metanu v přímé závislosti na počtu metanogenních endosymbiontů u jednotlivých druhů nálevníků. Avšak víme s jistotou, že metanogenní symbionti u bachorových nálevníků vyrábí až stokrát více metanu než ti, kteří žijí volně ve vodě (Kisidayova *et al.* 2000, citováno v van Hoek *et al.* 2006). Právě proto je tato symbióza mezi bachorovými nálevníky a metanogenními bakteriemi důležitá a je jedním ze zdrojů metanu v ovzduší (Görtz 2001). Další důvod významu metanogeneze je v metabolickém působení mikroflóry v bachoru. Metanogenní bakterie v bachoru přispívají k eliminaci redukčních ekvivalentů. Ty byly utvořeny při fermentaci, která probíhá činností anaerobních organismů (Šurín *et al.* 2006).

6. Životní prostředí anaerobních nálevníků

Anaerobní nálevníci mohou žít pouze v prostředí s velmi malým přístupem kyslíku nebo úplně bez něho. Zástupce jednotlivých skupin nacházíme jak volně žijící (téměř ve všech typech vod, na skládkách, v anaerobních čističkách), tak i v zaživacím traktu živočichů včetně člověka. Většina endobiotických druhů jsou komenzálové nebo mutualisti, ale známe i jednoho parazitujícího zástupce, který napadá živočichy a člověka. Je jím *Balantidium coli* a může způsobit smrtelnou chorobu.

6.1. Volně žijící anaerobní nálevníci

Volně žijící anaerobní nálevníky můžeme nalézt téměř všude. Živí se bakteriemi a řasami (Corliss 2002). Známe i druhy, které se mohou vyskytovat v okolí bohatém na sulfidy (např. *Plagiopyla nasuta* nebo *Metopus es*). Tito zástupci ke svému růstu potřebují vysoké množství bakterií, teplotu okolo 18 °C a koncentraci sulfanu okolo 1 mM (Massana *et al.* 1994).

6.2. Střevní nálevníci

Anaerobní prostředí v gastrointestinálním traktu býložravých živočichů podporuje rozvoj specifických mikrobiálních společenství, která bývají složena z bakterií, anaerobních hub nebo anaerobních prvoků a je charakterizováno dostupností bohatého zdroje rostlinných polymerů (Breznak 1982; Hungate 1966, citováno v Gijzen *et al.* 1991). U býložravých savců (například ovce, hovězí dobytek nebo kozy) nalezneme tyto mikroorganismy především v bachoru, u živočichů, kteří bachor nemají, se tyto organismy vyskytují ve střevě (Ricard *et al.* 2006). Abychom pochopili jejich roli v bachorovém ekosystému, musíme znát více informací o mikrobiální komunitě a o jejich celkovém efektu na fermentaci (Ranilla *et al.* 2007).

6.2.1. Bachoroví nálevníci

Bachor je vysoce specializovaná část žaludku, která je charakteristická pro přežvýkavce (Ruminantia), a probíhá zde trávení rostlinného materiálu jako potravního zdroje (Ricard *et al.* 2006). Tady bachoroví nálevníci tráví sacharidy, produkují aminokyseliny a zpracovávají nestravitelné strukturní polysacharidy na nestabilní lipidy, aby pak mohly být snadno absorbovány hostitelem a vytvářet tak jeho hlavní zásoby energie (Cameron 2003). Bachoroví nálevníci, kteří žijí v symbióze se skupinou přežvýkavců, systematicky spadají do podtřídy Trichostomatia a můžeme je rozdělit do dvou hlavních skupin (Ricard *et al.* 2006): řád **Entodiniomorphida** (*Entodinium simplex*, *Entodinium caudatum*, *Eudiplodinium*

maggii, *Metadinium medium*, *Diploplastron affine*, *Polyplastron multivesiculatum* a *Epidinium ecaudatum*) a řád **Vestibuliferida**, dříve pojmenované Holotricha (*Isotricha prostoma*, *Isotricha intestinalis* a *Dasytricha ruminantium*).

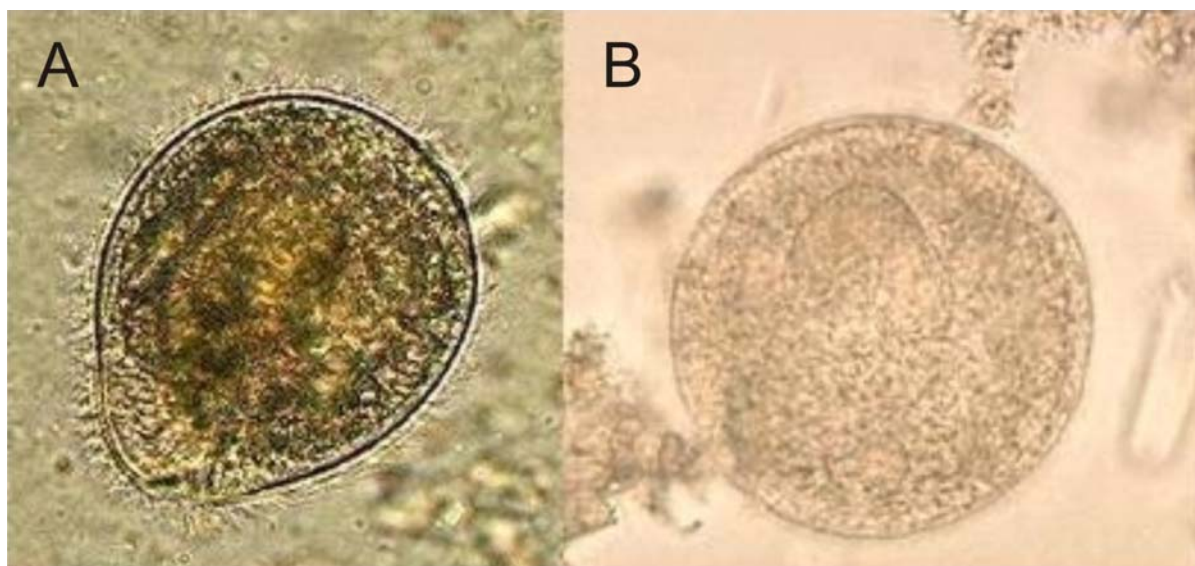
Dodnes jsou popsána společenstva střevních nálevníků u řady býložravců, např. u zebru (Mishima *et al.* 2009), koní (Strüder-Kypke *et al.* 2007), vačnatců (Cameron 2003) a velbloudů (Del Valle *et al.* 2008). Ale můžeme je objevit i u ryb (Li *et al.* 2007) nebo u šimpanzů a goril. Tady byla nalezena *Troglodytella*. O její roli u šimpanzů se toho zatím moc neví (Modrý *et al.* 2009). Zajímavé je, že u lidí nebyla nalezena. Očekáváme, že naši předci ji nejspíš měli, ale během evoluce o ni přišli. Asi to bylo dáno vlivem změny potravy (Irbis *et al.* 2008). V roce 2006 došlo k popsání nové skupiny nálevníků, která žije v zažívacím traktu nosorožce (skupina Gilchristidae) a náleží do skupiny Entodinomorpha (Ito *et al.* 2006). Jinak můžeme najít endosymbiotické nálevníky i u bezobratlých živočichů, např. u švábů již zmiňovaný *Nyctotherus ovalis* (Gijzen a Barugahare. 1992), nebo u kroužkvců, kde byly popsány rody *Plagiotoma* a *Anoplophrya* (Affa'a *et al.* 2004).

6.3. *Balantidium* jako patogen

Balantidium coli je litostomátní nálevník s cystami (viz obr. 6), který parazituje u různých skupin živočichů a člověka. Normálně žije v lumen tlustého střeva prasat, koní (Headley *et al.* 2008), primátů a občas i psů (Nakauchi 1999). Příležitostně může napadnout i člověka. Příbuzné druhy nalezneme téměř všude, například i v plazech a obojživelnících (Li *et al.* 2008) nebo v rybách (Li *et al.* 2007), kde se živí střevním obsahem a většinou nezpůsobují hostiteli závažná poškození. Za nejasných podmínek se *Balantidium coli* stává patogenní. Nálevníci pronikají do střevní sliznice nebo do lymfoidní tkáně a dojde ke vzniku vředů. Ty mohou pomocí roznosu krví perforovat i jiné orgány. Většinou toto onemocnění u zvířat nebývá doprovázeno viditelnými příznaky, ale často končí smrtí (Headley *et al.* 2008).

Balantidium je zatím jediný známý patogenní nálevník (a zároveň asi i jediný nálevník), který může nakazit i člověka. Toto málo časté onemocnění se nazývá balantidióza. K nákaze dochází vodou, která je kontaminovaná výkaly nakažených zvířat a po těle se dále roznáší v krvi. Balantidióza se vyskytuje téměř po celém světě, ale největší počet onemocnění je v tropických oblastech. Projevuje se krvavě hlenovými průjmy, vysokými teplotami, nechutenstvím, hubnutím a může dojít až ke zničení jater. Balantidióza má často podobné příznaky a průběh jako amébová dyzenterie. Diagnostika je založená na mikroskopickém nálezů nálevníků nebo jeho cyst v preparátu z čerstvé stolice. Léčí se

tetracyklinem nebo metronidazolem. Bez léčení může být toto onemocnění až smrtelné (Biagi 1970). O balantidióze viz (Zaman 1993).



Obr. 6. *Balantidium coli*. **A:** trofozoit (www.nationmaster.com/encyclopedia/Balantidium-coli); **B:** cysta (www.phsource.us/PH/PARA/Chapter_2.htm).

7. Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo shrnout základní informace o anaerobních nálevnicích. Jedná se o velmi zajímavou skupinu prvoků, která obývá anaerobní prostředí, ale bohužel není ještě tak probádaná jako jiné skupiny žijící ve stejném prostředí. Fylogenetické vztahy, které zde popisují, nejsou zcela ustálené a s nástupem analýz nově zkoumaných genů se do budoucna mohou tyto vztahy zcela změnit nebo upevnit. Co se týče jejich hydrogenosomů a symbiotických metanogenních archebakterií, jsou anaerobní nálevníci zajímavým tématem, o kterém toho ještě hodně uslyšíme.

8. Přehled literatury

Adl SM, Simpson AGB, Farmer MA, Andersen RA, Anderson OR, Barta JR, Bowser SS, Brugerolle G, Fensome RA, Fredericq S, James TY, Karpov S, Kugrens P, Krug J, Lane CE, Lewis LA, Lodge J, Lynn DH, Mann DG, Miccourt RM, Mendoza L, Moestrup Ø, Mozley-Standridge SE, Nerad TA, Shearer CA, Smirnov AV, Spiegel FW, Taylor MFJR. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 399-451

Adl SM, Leander BS, Simpson AGB, Archibald JM, Anderson OR, Bass D, Bowser SS, Brugerolle G, Farmer MA, Karpov S, Kolisko M, Lane CE, Lodge DJ, Mann DG, Meisterfeld R, Mendoza L, Ø Moestrup, Mozley-Standridge SE, Smirnov AV, Spiegel F. 2007. Diversity, nomenclature, and taxonomy of protists. *Systematic Biology* 56: 684-689

Affa'a FM, Hickey DA, Strüder-Kypke M, Lynn DH. 2004. Phylogenetic position of species in the genera *Anoplophrya*, *Plagiotoma*, and *Nyctotheroides* (phylum Ciliophora), endosymbiotic ciliates Annelids and Anurans. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 51: 301-306

Akhmanova A, Voncken F, van Alen T, van Hoek A, Boxma B, Vogels G, Veenhuis M, Hackstein JHP. 1998. A hydrogenosome with genome. *Nature* 396: 527-528

Baroin-Tourancheau A, Delgado P, Perasso R, Adoutte A. 1992. A broad molecular phylogeny of ciliates: Identification of major evolutionary trends and radiations within the phylum. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of USA* 89: 9764-9768

Baumgartner M, Stetter KO, Foissner W. 2002. Morphological, small subunit rRNA, and physiological characterization of *Trimyema minutum* (Kahl, 1931), an anaerobic ciliate from submarine hydrothermal vents growing from 28 °C to 52 °C. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 49: 227-238

Bernhard D, Leipe DD, Sogin ML, Schlegel KM. 1995. Phylogenetic relationships of the Nassulida within the phylum Ciliophora inferred from the complete small subunit rRNA gene sequences of *Furgasonia blochmani*, *Obertruria georgiana*, and *Pseudomicrothorax dubius*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 42: 126-131

Biagi F. 1970. Unusual isolates from clinical material - *Balantidium coli*. *Annals of the New York Academy of science of USA* 174: 1023-1026

Boxma B, Graaf RM, Staay GWM, Alen TA, Richard G, Gabaldón T, Hoek AHAM, Moon-van der Staay SY, Koopman WJH, van Hellemond JJ, Tielens AGM, Friedrich T, Veenhuis M, Huynen MA, Hackstein JHP. 2005. An anaerobic mitochondrion that produces hydrogen. *Nature* 434: 74-79

Boxma B, Ricard G, Ham von Hoek A, Severing E, Moon-van der Staay, S-Y, van der Staay GWM, van Alen TA, de Graaf RM, Cremers G, Kwantes M, McEwan NR, Newbold CJ,

Jouany J-P, Michalowski T, Pristas P, Huynen MA, Hackstein JHP. 2007. The [FeFe] hydrogenase of *Nyctotherus ovalis* has a chimeric origin. *BMC Evolutionary Biology* 7: 1-12

Bui ETN, Bradley PJ, Johnson PJ. 1996. A common evolutionary origin for mitochondria and hydrogenosomes. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of USA* 93: 9651-9656

Cameron SL. 2003. Taxonomy and phylogeny of endosymbiotic ciliates (Ciliophora: Litostomatea) associated with Australian herbivorous marsupials. *International Journal of Parasitology* 33: 347-355

Corliss JO. 2002. Biodiversity and biocomplexity of the protists and an overview of their significant roles in maintenance of our biosphere. *Acta Protozoologica* 41: 199-219

Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Honigberg BM, Leedale GF, Loeblich AR, Lom J, Lynn D, Merinfeld EG, Page FC, Poljansky G, Sprague V, Vavra J, Wallace FG. 1980. A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology* 27: 37-58

Del Valle I, De La Fuente G, Fondevila M. 2008. Ciliate protozoa of the forestomach of llamas (*Lama glama*) and alpacas (*Vicugna pacos*) from the Bolivian Altiplano. *Zootaxa* 1703:62-68

Denman SE, Tomkins NW, McSweeney C. 2007. Quantitation and diversity analysis of ruminal methanogenic populations in response to the antimethanogenic compound bromochloromethane. *FEMS Microbiology Ecology* 62: 313-322

Dyall SD, Johnson PJ. 2000. Origins of hydrogenosomes and mitochondria: evolution and organelle biogenesis. *Current Opinion in Microbiology* 3: 404-411

Dyall SD, Koehler CM, Delgadillo-Correa MG, Bradley PJ, Plümper E, Leuenberger D, Turck ChW, Johnson PJ. 2000. Presence of a member of the Mitochondrial carrier family in hydrogenosomes: Conservation of membrane-targeting pathways between hydrogenosomes and mitochondria. *Molecular and Cellular Biology* 20: 2488-2497

Ellis JE, McIntyre PS, Saleh M, Williams AG, Lloyd D. 1991. Influence of CO₂ and low concentrations of O₂ on fermentative metabolism of the rumen ciliate *Dasytrichia ruminantium*. *Journal of General Microbiology* 137: 1409-1417

Embley TM, Finlay BJ, Thomas RH, Dyal PL. 1992. The use of rRNA sequences and fluorescent probes to investigate the phylogenetic positions of the anaerobic ciliate *Metopus palaeformis* and its archaeobacterial endosymbiont. *Journal of General Microbiology* 138: 1479-1487

Finlay BJ, Embley TM, Fenchel T. 1993. A new polymorphic methanogen, closely related to *Methanocorpusculum parvum*, living in stable symbiosis within the anaerobic ciliate *Trimyema* sp. *Journal of General Microbiology* 139: 371-378

Gao S, Song W, Ma H, Clamp JC, Yi Z, Al-Rasheid KAS, Chen Z, Lin X. 2008. Phylogeny of six genera of the subclass Haptoria (Ciliophora, Litostomatea) inferred from sequences of the gene coding for small subunit ribosomal RNA. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 55: 562-566

Gijzen HJ, Barughare M. 1992. Contribution of anaerobic protozoa and methanogens to hindgut metabolic activities of the american cockroach, *Periplaneta americana*. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 2565-2570

Gijzen HJ, Broers CAM, Barughare M, Stumm CK. 1991. Methanogenic bacteria as endosymbionts of the ciliate *Nyctotherus ovalis* in the cockroach hindgut. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1630-1634

Görtz H-D. 2001. Intracellular bacteria in ciliates. *International Microbiology* 4: 143-150

Hackstein JHP, Akhmanova A, Boxma B, Harhangi HR, VonckenGJ. 1999. Hydrogenosomes: eukaryotic adaptations to anaerobic environments. *Trends in Microbiology* 7: 441-447

Hackstein JHP, Tjaden J, Huynen M. 2006. Mitochondria, hydrogenosomes and mitosomes: Products of evolutionary tinkering! *Current Genetics* 50: 225-245

Headley SA, Kummala E, Sukura A. 2008. *Balantidium coli*-infection in Finnish horse. *Veterinary Parasitology* 158: 129-132

Hirt RP, Dyal PL, Wilkinson M, Finlay BJ, Roberts DMcL, Embley TM. 1995. Phylogenetic relationships among Karyorelictids and Heterotrichs inferred from small subunit rRNA sequences: Resolution at the base of the ciliate tree. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 77-87

Hungate RE, Smith W, Bauchop T, Yu I, Rabinowitz JC. 1970. Formate as an intermediate in the Bovine rumen fermentation. *Journal of Bacteriology* 102: 389-397

Cho BCh, Park JS, Xu K, Choi JK. 2008. Morphology and molecular phylogeny of *Trimyema koreanum* n. sp., a ciliate from the hypersaline water of a solar saltern. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 55: 417-426

Irbis Ch, Garriga R, Kabasawa A, Ushida K. 2008. Phylogenetic analysis of *Troglodytella abressarti* isolated from Chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) in the wild and in captivity. *The Journal of General and Applied Microbiology*.54: 409-413

Ito A, Van Hoven W, Miyazaki Y, Imai S. 2006. New entodiniomorphid ciliates from the intestine of the wild African white rhinoceros belong to a new family, the Gilchristidae. *European Journal of Protistology* 42: 297-307

Li M, Li D, Wang J, Zhang J, Gu Z, Gong X. 2007. Light and scanning electron microscopic study of *Balantidium ctenopharyngodoni* Chen, 1955 (Class: Litostomatea) from China. *Parasitology Research* 101: 185-192

Li M, Wang J, Zhang J, Gu Z, Ling F, Ke X, Gong X. 2008. First report of two *Balantidium* species from the chinese giant salamander, *Andrias davidianus*: *Balantidium sinensis* nie 1935 and *Balantidium andianusis* n. sp. *Parasitology Research* 102: 605-611

Lynn DH. 1979. Fine structural specializations and evolution of carnivory in *Bresslaua* (Ciliophora: Colpodida). *Transactions of the American Microscopical Society* 98: 353-368

Lynn DH. 1981. The organization and evolution of microtubular organelles in ciliated protozoa. *Biological Reviews* 56: 243-292

Lynn DH. 2002. The ciliate resource archive. <http://www.uoguelph.ca/~ciliates/classification/genera.htm>

Lynn DH. 2003. Morphology or molecules: How we identify the major lineages of ciliate (Phylum Ciliophora). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 39: 356-364

Lynn DH. 2008. Subphylum 2. Intramacronucleata: class 2. Armophorea – sapropelelibionts that once were Heterotrichs. In Lynn DH (ed.) *The ciliated protozoa, characterization, classification, and guide to the literature*. 3rd edition. Springer Science + Business Media B. V., Netherlands, pp. 175-185

Lynn DH, Small EB. 1990. Phylum Ciliophora. In: Margulis L, Corliss JO, Melkonian M, Chapman DJ (eds.). Handbook of Protoctista. Jones and Bartlett Publishers, Boston, pp. 498-523

Lynn DH, Small EB. 2002. Phylum Ciliophora. In: Lee JJ, Leedale GF, Bradbury P (eds.). An illustrated guide to the Protozoa. 2nd edition. Allen Press. Inc., Lawrence, Kansas, pp. 371-656

Lynn DH, Strüder-Kypke M. 2002. Phylogenetic position of *Licnophora*, *Lechriopyla*, and *Schizocaryum*, three unusual ciliates (Phylum Ciliophora) endosymbiotic in Echinoderms (Phylum Echinodermata). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 49: 460-468

Martin W. 2005. The missing link between hydrogenosomes and mitochondria. *Trends in Microbiology* 13: 457-459

Massana R, Stumm CK, Pedrós-Alió C. 1994. Effects of temperature, sulfide, and food abundance on growth and feeding of anaerobic ciliates. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 1317-1324

McGrath CL, Zufall RA, Katz LA. 2007. Variation in macronuclear genome content of three ciliates with extensive chromosomal fragmentation: A preliminary analysis. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 54: 242-246

Mishima T, Katamoto H, Horii Y, Kakengi VAM, Ito A. 2009. Rumen ciliates from Tanzanian short horn zebu cattle, *Bos taurus indicus*, and the infraciliature of *Entodinium palmáre* n. sp. and *Enoploplastron stoky*. *European Journal of Protistology* 45: 77-86

Modrý D, Petrželová K, Pomajbíková K, Tokiwa T, Křížek J, Imai S, Vallo P, Profousová I, Šlapeta J. 2009. The occurrence and ape-to-ape transmission of the entodiniomorphid ciliate *Troglodytella abrassarti* in captive gorillas. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 56:83-87

Moreira D, Le Guyader H, Philippe H. 1999. Unusually high evolutionary rate of the elongation factor 1 α genes from the Ciliophora and its impact on the phylogeny of eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution* 16: 234-245

Nakauchi K. 1999. The prevalence of *Balantidium coli* infection in fifty-six mammalian species. *The Journal of Veterinary Medical Science* 61: 63-65

Ranilla MJ, Jouany JP, Morgavi DP. 2007. Methane production and substrate degradation by rumen microbial communities containing single protozoal species in vitro. *The Society for Applied Microbiology, Letters and Applied Microbiology* 45: 675-680

Ricard G, McEwan NR, Dutilh BE, Jouany J-P, Macheboeuf D, Mitsumori M, McIntosh FM, Michalowski T, Nagamine T, Nelson N, Newbold ChJ, Nsabimana E, Takenaka A, Thomas NA, Ushida K, Hackstein JHP, Huynen MA. 2006. Horizontal gene transfer from Bacteria to rumen Ciliates indicates adaptation to their anaerobic, carbohydrates-rich environment. *BMC Genomics* 7: 22

Roger AJ. 1999. Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *American Naturalist* 154: 146-163

Rotte C, Stejskal F, Zhu G, Keithly JS, Martin W. 2001. Pyruvate: NADP⁺ oxidoreductase from the mitochondrion of *Euglena gracillis* and from the apicomplexan *Cryptosporidium parvum*: a biochemical relic linking pyruvate metabolism in mitochondriate and amitochondriate protists. *Molecular Biology and Evolution* 18: 710-720

Serrano S, Martín-González A, Fernández-Galiano D. 1988. *Trimyema compressum* Lackey, 1925: morphology, morphogenesis and systematic implications. *Journal of Protozoology* 35: 315-320

Shinzato N, Watanabe I, Meng X-Y, Sekiguchi Y, Tamaki H, Matsui T, Kamagata Y. 2007. Phylogenetic analysis and fluorescence *In situ* hybridization detection of archaeal and bacterial endosymbionts in the anaerobic ciliate *Trimyema compressum*. *Microbial Ecology* 54: 627-636

Stechmann A, Schlegel M, Lynn DH. 1998. Phylogenetic relationships between Prostome and Colpodean ciliates tested by small subunit rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 48-54

Stechmann A, Hamblin K, Pérez-Brocal V, Gaston D, Richmond GS, van der Giezen M, Clark CG, Roger AJ. 2008. Organelles in blastocystis that blur the distinction between mitochondria and hydrogenosomes. *Current Biology* 18: 580-585

Stoeck T, Foissner W, Lynn DH. 2007. Small-subunit rRNA phylogenies suggest that *Epalxella antiquorum* (Penard, 1922) Corliss, 1960 (Ciliophora, Odontostomatida) is a member of the Plagyopylea. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 54: 436-442

- Strüder-Kypke MC, Wright ADG, Foissner W, Chatzinotas A, Lynn DH.** 2006. Molecular phylogeny of litostome ciliates (Ciliophyla, Litostomatea) with emphasis on free-living haptorian genera. *Protist* 157: 261-278
- Strüder-Kypke MC, Kornilova OA, Lynn DH.** 2007. Phylogeny of trichostome ciliates (Ciliophora, Litostomatea) endosymbiotic in the Yakut horse (*Equus caballus*). *European Journal of Protistology* 43: 319-328
- Stumm CK, Gijzen HJ, Vogels GD.** 1982. Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. *British Journal of Nutrition* 47: 95-99
- Šlapeta J, Moreira D, López-García P.** 2005. The extent of protist diversity: insights from molecular ecology of freshwater eukaryotes. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 272: 2073-2081
- Šurín S, Čuboňová L', Majerník AI, Šmigáň P.** 2006. Amiloride resistance in the methanoarcheon *Methanothermobacter thermoautotrophicus*: characterization of membrane-associated proteins. *Folia Microbiologica* 51: 313-316
- Thauer RK.** 1998. Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson. *Microbiology* 144: 2377-2406
- Tielens AGM, Rotte C, van Hellemond JJ, Martin W.** 2002. Mitochondria as we don't know them. *Trends in Biochemical Science* 27: 564-572
- Van Hoek AHAM, van Alen TA, Sprakel VSI, Hackstein JHP, Vogels GD.** 1998. Evolution of anaerobic ciliates from the gastrointestinal tract: phylogenetic analysis of the ribosomal repeat from *Nyctotherus ovalis* and its relatives. *Molecular Biology of Evolution* 15: 1195-1206
- Van Hoek AHAM, Akhmanova AS, Huynen MA, Hackstein JHP.** 2000. A mitochondrial ancestry of the hydrogenosomes of *Nyctotherus ovalis*. *Molecular Biology of Evolution* 17: 202-206
- Van Hoek AHAM, van Alen TA, Sprakel VSI, Leunissen JAM, Brigge T, Vogel GD, Hackstein JHP.** 2000. Multiple acquisition of methanogenic archaeal symbionts by anaerobic ciliates. *Molecular Biology and Evolution* 17: 251-258

Van Hoek AHAM, van Alen TA, Vogel GD, Hackstein JHP. 2006. Contribution by the methanogenic endosymbionts of anaerobic ciliates to methane production in Dutch freshwater sediments. *Acta Protozoologica* 45: 215-224

Vogels GD, Hoppe WF, Stumm CK. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Applied and Environmental Microbiology* 40: 608-612

Wright A-DG, Dehority BA, Lynn DH. 1997. Phylogeny of the rumen ciliates *Entodinium*, *Epidinium* and *Polyplastron* (Litostomatea: Entodiniomorpha) inferred from small subunit ribosomal RNA sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 44: 61-67

Yarlett N, Lloyd D, Williams AG. 1985. Butyrate formation from glucose by the rumen protozoan *Dasytrichia ruminantium*. *Biochemical Journal* 228: 187-192

Zaman V. 1993. *Balantidium coli*. In: Kreier JP, Baker JR (eds.). Parasitic protozoa. 2nd edition. Academic Press, Inc., San Diego, California, pp. 43-63

Sekundární citace:

Baroin-Tourancheau A, Delgado P, Perasso R, Adoutte A. 1992. A broad molecular phylogeny of ciliates: Identification of major evolutionary trends and radiations within the phylum. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of USA* 89: 9764-9768

Baumgartner M, Stetter KO, Foissner W. 2002. Morphological, small subunit rRNA, and physiological characterization of *Trimyema minutum* (Kahl, 1931), an anaerobic ciliate from submarine hydrothermal vents growing from 28 °C to 52 °C. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 49: 227-238

Gijzen HJ, Broers CAM, Barughare M, Stumm CK. 1991. Methanogenic bacteria as endosymbionts of the ciliate *Nyctotherus ovalis* in the cockroach hindgut. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1630-1634

Van Hoek AHAM, van Alen TA, Vogel GD, Hackstein JHP. 2006. Contribution by the methanogenic endosymbionts of anaerobic ciliates to methane production in Dutch freshwater sediments. *Acta Protozoologica* 45: 215-224