

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie se zaměřením na vzdělávání

Studijní obor: Biologie se zaměřením na vzdělávání – Chemie se zaměřením na vzdělávání



Ondřej Zahradníček

Bioluminiscence obrněnek
Bioluminescence in Dinoflagellates

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Yvonne Němcová, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení:

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

V Praze dne 2.5.2023

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych chtěl především poděkovat mé paní školitelce doc. RNDr. Yvonne Němcové, Ph.D., za celkové vedení práce, za její velikou trpělivost a ochotu. Dále bych chtěl poděkovat také za spoustu užitečných rad, které mi při psaní práce velmi pomohly a posouvaly mě dále. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat mé rodině a přátelům, kteří mě po celou dobu studia a po dobu psaní této práce podporovali.

Abstrakt

Bioluminiscence je v přírodě poměrně rozšířeným jevem. Schopnost vyzařovat světlo má celá řada organismů. Cílem této bakalářské práce je shrnutí nejnovějších poznatků týkajících se bioluminiscence u obrněnek. Tyto organismy představují nejdůležitější protistní linii schopnou produkovat světelné záblesky. Jsou totiž zodpovědné za většinu bioluminiscence pozorované v povrchových mořích a oceánech. Bakalářská práce podrobně popisuje biochemickou reakci bioluminiscence, při které dochází k oxidaci substrátu (luciferinu) za přítomnosti enzymu luciferázy. V práci jsou představeny nejvýznamnější druhy světélkujících obrněnek, které často způsobují i toxické vodní květy. Následně se práce dotýká faktorů ovlivňujících intenzitu bioluminiscence. V neposlední řadě je v práci zmíněno, jak mohou obrněnky využít bioluminiscenci jako ochranu proti predátorům. Zábleskem světla mohou např. vylekat predátory nebo záblesk použijí jako „poplašný systém“, kterým přilákají predátory svých predátorů.

Klíčová slova: bioluminiscence, luciferin, luciferáza, obrněnka, záblesk světla

Abstract

Bioluminescence is a relatively widespread phenomenon in nature. A variety of organisms have the ability to emit light. The aim of this bachelor thesis is to summarize the latest findings on bioluminescence in dinoflagellates. These organisms are the most important protist lineage capable of producing light flashes. Indeed, they are responsible for most of the bioluminescence observed in surface the seas and oceans. This bachelor thesis discusses the biochemical reaction of bioluminescence in which the substrate (luciferin) is oxidized in the presence of the enzyme luciferase. The thesis introduces the major species of luminescent dinoflagellates that frequently cause toxic harmful algal blooms. Then the factors affecting the intensity of bioluminescence are discussed. Last but not least, dinoflagellates can use bioluminescence as protection from predators. For example, they may use a flash of light to startle predators or use the flash as a "burglar alarm" to attract predators of their predators.

Key words: bioluminescence, luciferin, luciferase, dinoflagellates, light flash

Obsah

1. Úvod	6
2. Obecná charakteristika obrněnek	7
3. Produkce záblesku uvnitř buňky	8
4. Diverzita světélkujících druhů	12
4.1. <i>Pyrocystis lunula</i>	12
4.2. <i>Pyrodinium bahamense</i>	14
4.3. <i>Lingulodinium polyedra</i>	16
4.4. <i>Noctiluca scintillans</i>	18
5. Faktory ovlivňující intenzitu bioluminiscence	20
6. Funkce bioluminiscence u obrněnek	23
7. Závěr.....	28
8. Reference.....	30

1. Úvod

Bioluminiscence je schopnost organismů produkovat elektromagnetické záření ve viditelné části spektra. Tento jev je možné pozorovat zejména v moři, ale i na souši (například u světlušek a dalšího hmyzu). Bioluminiscence není téměř pozorovatelná ve sladkovodním prostředí, s výjimkou některých larev hmyzu (Haddock et al., 2010).

Bioluminiscence je rozšířená hlavně v moři, protože nabízí poměrně stabilní podmínky prostředí s dlouhou nepřerušenou evoluční historií, což o sladkovodních biotopech říct nelze (například vysychající řeky či jezera). Mořské prostředí je také opticky čistší než to sladkovodní, zákal ve sladkých vodách způsobuje rozptyl světla. V moři se vyskytuje velké množství stanovišť, do kterých se dostává pouze tlumené sluneční záření, nebo je v nich nepřetržitá tma. V tomto případě zde bioluminiscence plní funkci primárního zdroje světla. Dalším důvodem výskytu bioluminiscence v moři je fakt, že zde dochází k interakcím mezi různými taxony, včetně interakcí mezi predátorem, parazitem a kořistí (Haddock et al., 2010). Většina organismů schopných bioluminiscence se vyskytovala v otevřeném oceánu. Proto emisní spektrum vyzářeného světla odpovídá modré barvě s vlnovou délkou kolem 475 nm. Modré světlo totiž dokáže vodním sloupcem pronikat nejhluběji. Další emisní spektrum bioluminiscence je v zelené oblasti, vyskytuje se zejména u druhů žijících v bentických či mělkých pobřežních oblastech. V těchto prostředích je přítomný větší zákal, jehož částice rozptylují modré světlo a podporují šíření delších vlnových délek, tedy zelené světlo (Widder, 2010).

Je odhadováno, že bioluminiscence se vyvinula nezávisle na sobě nejméně čtyřicetkrát. Zajímavostí je, že existují důkazy o nezávislém původu nejen v rámci taxonů, ale dokonce i v rámci jednotlivých druhů (Widder, 2010). Bioluminiscence je velmi energeticky náročným dějem, přesto je mezi nejrůznějšími organismy rozšířená. Pro organismy totiž představuje vysoce účinný způsob komunikace s organismy mnohem většími a potenciálně vzdálenými. (Warrant & Locket, 2004).

Světlo emitované bioluminiscencí je výsledkem energie uvolněné během chemické reakce. Ve většině případů se jedná o reakci, při níž dochází k oxidaci luciferinu molekulárním kyslíkem. Rychlost oxidace je řízena enzymem, a to buď luciferázou, nebo fotoproteinem. Luciferiny jsou vysoce konzervované napříč kmeny, naopak luciferázy a fotoproteiny jsou jedinečné v různých evolučních liniích (Haddock et al., 2010).

Bioluminiscence poskytuje organismům mnoho výhod, díky kterým mohou snáze přežít v okolním prostředí. Může sloužit jako pomůcka při hledání potravy nebo může

být použita k vnitrodruhové komunikaci. V neposlední řadě může fungovat jako obrana proti predátorům (Widder, 2010).

Cílem této bakalářské práce je rešerše nejnovějších poznatků o bioluminiscenci obrněnek. Práce se zaměřuje na biochemickou podstatu produkce záblesku, dále pojednává o významných světélkujících zástupcích obrněnek a také o intenzitě a funkci bioluminiscence.

2. Obecná charakteristika obrněnek

Obrněnky (Dinophyceae) jsou vodní eukaryotní organismy patřící do superskupiny SAR, konkrétně do skupiny Alveolata. Jejich schránka je tvořená z celulózových destiček umístěných pod plasmatickou membránou. Théka je rozdělena rýhou (cingulum) na epithéku a hypothéku. K pohybu ve vodním sloupci jim slouží dva bičíky – podélný a příčný. V cingulu se pohybuje příčný bičík v podobě undulující membrány. Z hlediska výživy se jedná o autotrofy, heterotrofy nebo mixotrofy. Fotosyntetické druhy mají plastidy obsahující chlorofyl *a* a *c*. V plastidech mají obsažený pyrenoid, což je specifické místo, kde je naakumulován enzym RuBisCO. Jádro obrněnek (dinokaryon) obsahuje trvale kondenzované chromozomy, s výjimkou despiralizace těsně před replikací DNA (Graham et al., 2016). Během mitózy zůstává jaderná membrána neporušená a mitotické vřeténko je tvořeno mimo jádro. Svazky mikrotubulů mitotického vřeténka tak procházejí tunely v jaderné membráně. Každý chromozom se skrze kinetochory připojuje k mikrotubulům prostřednictvím kontaktu s jaderným obalem (Oakley & Dodge, 1974). Obrněnky jsou schopné také fototaxe (pohyb za světlem) díky stigmatu, které je přítomno v plastidu. Nepohlavně se rozmnožují mitotickým dělením, ale u některých bylo pozorováno i pohlavní rozmnožování. Za nepříznivých podmínek vytvářejí cysty (Anderson & Wall, 1978). Obrněnky jsou zodpovědné i za produkci různých toxinů a jsou též v symbiotickém vztahu s korály (Graham et al., 2016).

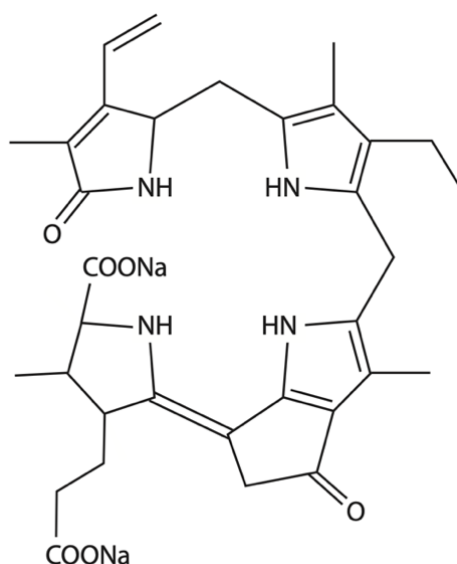
Obrněnky jsou schopny tvořit velké populace jak ve sladkých vodách známé jako vodní květy (Graham et al., 2004), tak i v mořích, kde se tyto vodní květy nazývají red-tides (červené vodní květy). Naprostá většina obrněnek tvořící vodní květy jsou fotosyntetické organismy. Jsou mezi nimi i heterotrofní výjimky, jako třeba *Protoperidinium depressum*, který tvoří sezónně vysoké populace v ústí řek a dalších pobřežních vodách. Existuje celá řada vlastností, které umožňují obrněnkám úspěšně tvořit vodní květy. Především je to jejich efektivní pohyb pomocí bičíku. Dále je to také schopnost aktivního pohybu za světlem, který poskytuje obrněnkám schopnost vertikálně migrovat vodním sloupcem. Obrněnky tak mají zajištěný větší přísun potravy (organické částice a anorganické živiny).

U fotosyntetických obrněnek lze pozorovat, že se přes den nacházejí v povrchových vodách, kde díky dostatku slunečního záření mohou fotosyntetizovat. Přes noc migrují vodním sloupcem do větších hloubek, díky čemuž získávají živiny, ale také se vyhýbají predátorům. Obrněnky jsou schopné vycítávat fosfor z rozpuštěných organických zdrojů. Zároveň jsou schopné uchovávat relativně velké množství fosforu pro pozdější použití, pokud je koncentrace tohoto prvku v okolí nízká. Vodní květ obrněnek tak může propuknout v době, kdy jsou hladiny rozpuštěných živin (zejména fosforu) natolik nízké, aby se udržely velké populace jiných konkurenčních řas (Graham et al., 2016).

Na tvorbě vodního květu se podílí i velká většina ekologicky významných druhů, které jsou rovněž schopné bioluminiscence (např. *Noctiluca scintillans*, Huang & Qi, 1997). Jedná se dokonce o nejdůležitější protistní linii, která je schopná tohoto jevu. Možnost produkovat světlo byla pozorována pouze u mořských zástupců, u zhruba 6 % popsaných rodů (Hastings & Morin, 1991)

3. Produkce záblesku uvnitř buňky

Hlavní molekulou způsobující emisi světla je luciferin, který má v mechanismu bioluminiscence roli substrátu. První purifikaci a základní charakterizaci luciferinu u *Pyrocystis lunula* provedli Dunlap et al. (1981), chemickou strukturu následně objasnili Nakamura et al. (1989). Luciferin představuje otevřený lineární tetrapyrrol, který je podobný chlorofylu *a* (viz obr. 1).



Obrázek 1 – Struktura luciferinu u obrněnek; převzato z Haddock et al. (2010).

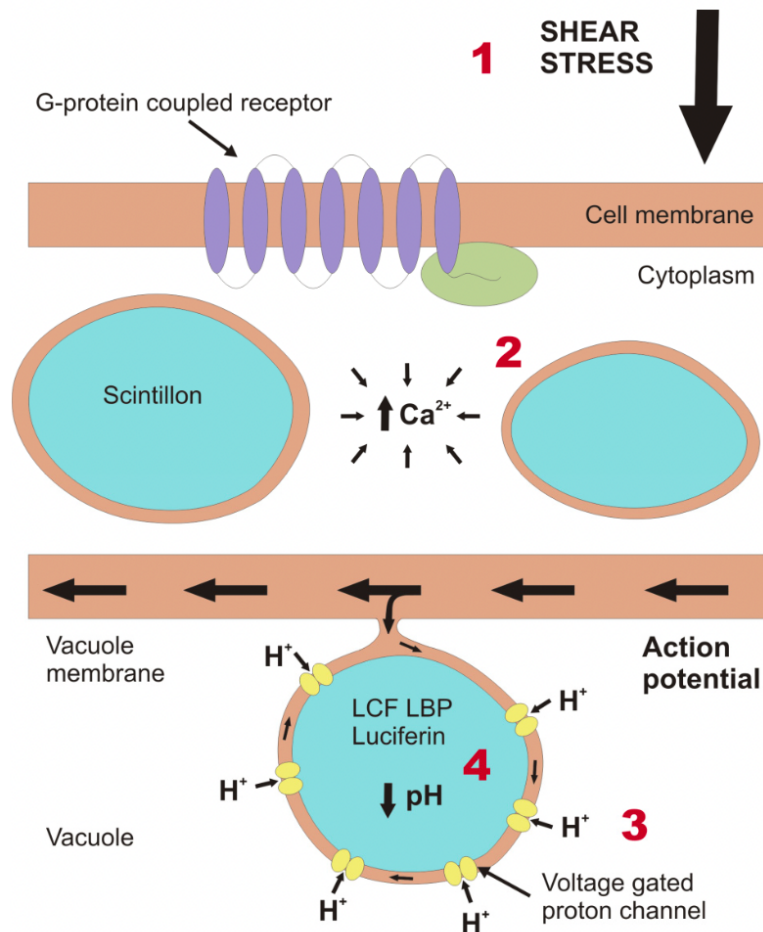
Topalov a Kishi (2001) vznesli hypotézu, že luciferin vzniká foto-oxidací rozloženého chlorofylu *a*. Tuto hypotézu však nelze uplatnit u všech zástupců obrněnek. Například *Lingulodinium polyedra* obsahuje luciferin pouze v noci, kdy foto-oxidace neprobíhá (Akimoto et al., 2004). *Protoperidinium crassipes* pro změnu dokáže emitovat světlo po celý rok bez přítomnosti potravy, která by obsahovala chlorofyl nebo luciferin (Yamaguchi & Horiguchi, 2008). Je možné, že je luciferin syntetizován vícero metabolickými dráhami (Valiadi & Iglesias-Rodriguez, 2013).

Další důležitou látkou je enzym luciferáza (LCF), který má roli katalyzátoru v průběhu celé biochemické reakce. Některé druhy obrněnek (např. *Lingulodinium polyedra*) navíc obsahují protein vázající luciferin, LBP (z anglického luciferin binding protein; Schmitter et al., 1976). Všechny tyto komponenty se nacházejí v organelách zvaných scintilony, ve kterých celý proces bioluminiscence probíhá (DeSa & Hastings, 1968).

Scintilony jsou buněčné organely, které mají průměr přibližně 0,5–0,9 μm (Nicolas et al., 1987) a během noci se vyskytují na periférii buňky (Fritz et al., 1990). Světelný záblesk je primárně vyzařován jako odpověď na deformaci buněčné membrány v důsledku stříhového napětí (Hamman & Seliger, 1972). Stříhové napětí je obvykle generováno během lámání vln (Stokes, 2004) nebo při kontaktu s predátory (Rohr et al., 1998).

Za bioluminiscenci je zodpovědná kaskáda buněčných mechanismů, a to od zaregistrování vnějšího podnětu buňkou, až po produkci záblesku. Biochemická reakce, která vede k bioluminiscenci, je závislá na hodnotě pH. K emisi světla je nutná acidifikace scintilonů. Proto se scintilony spojují s vakuolou o nízkém pH, aby došlo k jejich okyselení. Na začátku celého procesu je nejprve vyvíjen tlak na buněčnou membránu v důsledku stříhového napětí (viz obr. 2: 1; Hamman & Seliger, 1972). Mechano-transdukční dráha zahrnuje aktivaci receptoru spřaženého s G-proteinem, který se nachází na vnitřní straně buněčné membrány (Chen et al., 2007). Po přenosu mechanického signálu z vnějšího prostředí dovnitř buňky musí být tento signál převeden na signál elektrický, který se následně šíří membránou vakuoly. Elektrického signálu je dosaženo zvýšením koncentrace Ca^{2+} v cytoplazmě z intracelulárních zásob, ale částečně i z extracelulárních zdrojů (viz obr. 2: 2; von Dassow & Latz, 2002). Zvýšená koncentrace těchto iontů způsobí depolarizaci membrány vakuoly, a dojde tak k vytvoření akčního potenciálu, který se šíří tonoplastem. Na obrázku je znázorněný scintilon, který vyčnívá do nitra vakuoly a je asociovaný s její membránou. Akční potenciál se tak šíří i membránou scintilonu, ve které se nacházejí napětově řízené protonové kanály. Ty se vlivem akčního potenciálu otevírají a dochází

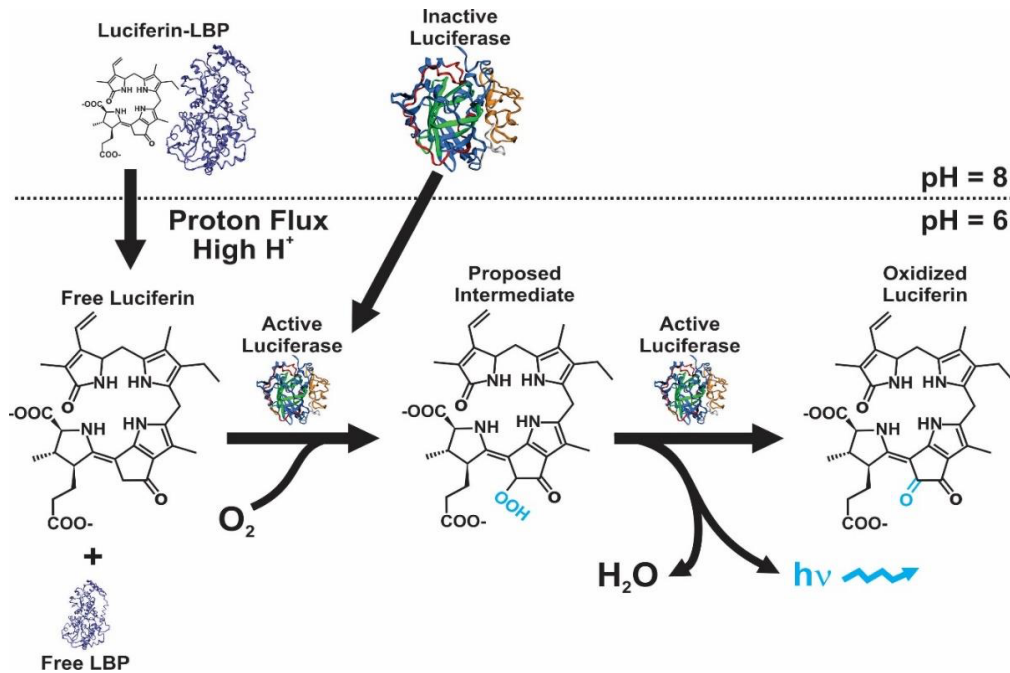
k přenosu protonů z vakuoly do nitra scintilonu (viz obr. 2: 3; Smith et al., 2011). Transportem protonů tak dojde ke snížení vnitřního pH scintilonů z 8 na 6, díky čemuž může proběhnout kýžená biochemická reakce (viz obr. 2: 4; Fogel & Hastings, 1972).



Obrázek 2 – Schematické znázornění části buňky obrněnky zobrazující buněčné procesy, které jsou zodpovědné za vytvoření světelného záblesku; receptor spřažený s G-proteinem zaznamená mechanické podráždění a dojde k převedení mechanického signálu na elektrický díky zvýšené koncentraci Ca^{2+} , následně dojde k vytvoření akčního potenciálu, který se šíří membránou vakuoly a scintilonu, na akční potenciál reagují napětově řízené protonové kanály, čímž dojde k transportu protonů do scintilonu a hodnota pH se sníží; díky nízkému pH protein vázající luciferin (LBP) uvolní luciferin, který se může navázat na katalytická místa již aktivní luciferázy (LCF); převzato z Valiadi & Iglesias-Rodriguez (2013).

Po acidifikaci scintilonů dojde ke strukturálním změnám luciferázy, díky čemuž se dostane do své aktivní konformace. Zároveň se zpřístupní vazebná místa pro navázání luciferinu (Schultz et al., 2005). U obrněnek, které navíc obsahují protein vázající luciferin (LBP), je luciferin tímto proteinem vázán při neutrálním až alkalickém pH (hodnota pH se pohybuje kolem 8). Molekula luciferinu je tak chráněna před autooxidací. Pokud dojde ke snížení pH na hodnotu kolem 6, LBP změní konformaci, čímž je luciferin uvolněn a může se navázat na již aktivní luciferázu (Fogel & Hastings, 1971).

Luciferin je během biochemické reakce oxidován molekulárním kyslíkem na oxyluciferin a reakce je katalyzována enzymem luciferázou (Nakamura et al., 1989). Výsledkem této reakce je emise fotonů ve formě krátkého modrého záblesku s přibližnou vlnovou délkou 475 nm (Hastings, 1983). Nakamura et al. (1989) navrhli model objasňující mechanismus emise světla a rovněž navrhli chemickou strukturu intermediární molekuly, která je zodpovědná za produkci záblesku (viz obr. 3).



Obrázek 3 – Bioluminiscenční model v obrněnkách ukazující vliv pH na LBP (luciferin vázající protein) a LCF (luciferáza); převzato z Fajardo et al. (2020).

Mechano-transdukční dráha vedoucí k bioluminiscenci je velmi pozoruhodná. Časový interval mezi zaregistrováním mechanického stimulu a odpovědí v podobě záblesku je pouhých 15–20 ms (Hickman & Edmonds, 1984).

4. Diverzita světélkujících druhů

Světélkující obrněnky zahrnují kromě autotrofů i důležité heterotrofní druhy (např. *Noctiluca scintillans*), ale třeba i toxické druhy (např. *Pyrodinium bahamense*, *Lingulodinium polyedra*). Některé světélkující druhy jsou kosmopolitní v pobřežních oblastech, ale i v otevřených oceánech. Vyskytují se hlavně v tropických a subtropických oblastech. Počty světélkujících obrněnek znázorňuje tabulka č. 1.

Tabulka 1 – Diverzita světélkujících druhů; rody se světélkujícími druhy jsou od Marcinko et al. (2013), Poupin et al. (1999) a Valiadi et al. (2012); počty druhů v rámci každého rodu jsou uvedeny podle taxonomicky uznaných druhů uvedených v Algae Base (staženo 28. dubna 2013); otazník znamená, že zpráva o bioluminiscenci v daném rodu není potvrzená dalšími výzkumy; převzato z Valiadi & Iglesias-Rodriguez (2013).

Order Family	Genus	No. of reported BL species	Total no. of species in genus
Gonyaulacales			
Ceratiaceae	<i>(Neo)ceratium</i>	4	77
Goniodomaceae	<i>Alexandrium</i>	7	31
	<i>Pyrodinium</i>	1	1
Cladopixidaceae?	<i>Peridiniella</i>	1	3
Ceratocoryaceae	<i>Ceratocorys</i>	1	11
Gonyaulaceae	<i>Gonyaulax</i>	11	72
	<i>Lingulodinium</i>	1	2
Pyrocystaceae	<i>Pyrocystis</i>	4	16
Pyrophacaceae	<i>Fragilidium</i>	4	5
	<i>Pyrophacus</i>	1	4
Gymnodiniales			
Gymnodiniaceae	<i>Polykrikos</i>	2	5
Noctilucales			
Noctilucaeae	<i>Noctiluca</i>	1	1
Peridiniales			
Proroperidiniaceae	<i>Protoperidinium</i>	31	295

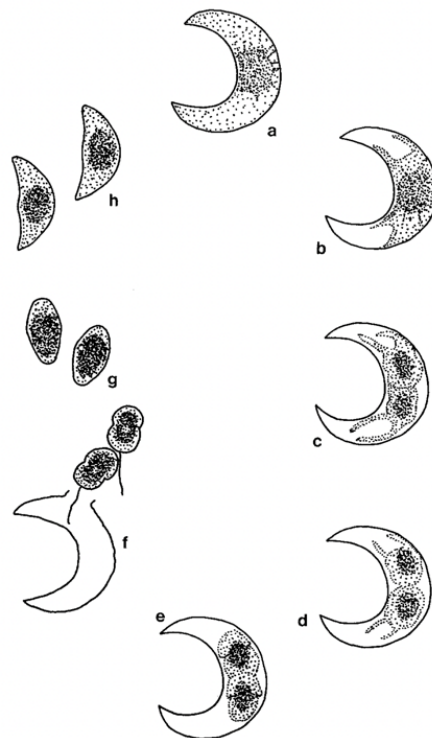
4.1. *Pyrocystis lunula*

Pyrocystis lunula (viz obr. 4) je již dlouhou dobu hlavním modelovým organismem pro studium bioluminiscence obrněnek (Swift & Taylor, 1967). Zajímavostí je, že první purifikaci a základní charakterizaci luciferinu provedli (Dunlap et al., 1981) právě u *P. lunula*. Pro tuto obrněnku je typické, že intenzitu bioluminiscence reguluje pomocí cirkadiánních rytmů. Regulace probíhá na principu transportu scintilonů mezi nitrem a periferií buňky. Přes den jsou scintilony ve středu buňky a bioluminiscence neprobíhá. Přes noc jsou naopak scintilony na periferii buňky, kde snáze dochází k jejich agitaci, bioluminiscence probíhá a záblesky jsou ve tmě viditelné. Migrace scintilonů byla pozorována u příbuzného druhu *Pyrocystis* sp. (Widder & Case, 1982).

Pyrocystis lunula je fotoautotrofní obrněnka (Seo & Fritz, 2000). V životním cyklu *P. lunula* (viz obr. 5) převládá nepohlavní rozmnožování. Tento proces zahrnuje střídání kokální fáze s fází planospor. Planospora je reprodukční stádium, které se pohybuje pomocí jednoho bičíku (Elbrächter & Drebes, 1978). Kromě toho bylo u *P. lunula* pozorováno i sexuální rozmnožování. Dvě buňky se spojí svými konci, dojde k plazmogamii a následně ke karyogamii (Seo & Fritz, 2001).



Obrázek 4 – *Pyrocystis lunula*, převzato z <https://eol.org/pages/901648>.

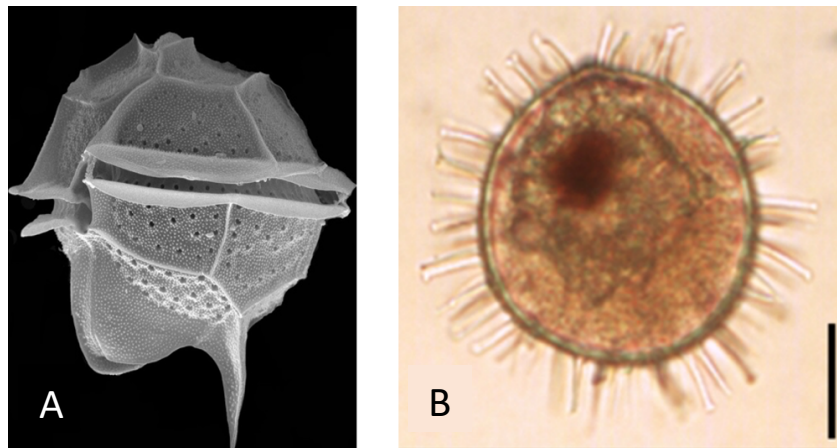


Obrázek 5 – Nepohlavní cyklus *Pyrocystis lunula*; **a** kokální buňka; **b–e** formování planospor uvnitř kokální buňky; **f** uvolnění dvou jednobíčíkatých planospor z mateřské buňky; **g–h** klíčení planospor a jejich vývoj v kokální buňku; převzato z Elbrächter & Drebes (1978).

4.2. *Pyrodinium bahamense*

Pyrodinium bahamense (viz obr. 6A) je tropická/subtropická fotosyntetizující obrněnka (Morquecho, 2019), která snáší vysoký rozsah salinity od 26 ‰ do 36 ‰ (Gedaria et al., 2007).

Schránka buňky *P. bahamense* je tvořena epithékou a hypothékou, ze které vyrůstá apikální výběžek (viz obr. 6A). Schránka je charakteristická výraznými spojnicemi destiček. Cysty jsou kulovitého tvaru a na povrchu mají zploštělé tubulární výběžky různé délky (viz obr. 6B; Morquecho, 2019). U živých cyst se vyskytuje červené akumulční tělísko, jehož funkce není známá. Toto tělísko ale může sloužit k odlišení cyst nebo vegetativních buněk patřících do jiných skupin řas (Morquecho et al., 2014, Graham et al., 2016; viz obr. 6B). Cysty také obsahují četná škrobová zrna (Morquecho et al., 2014).

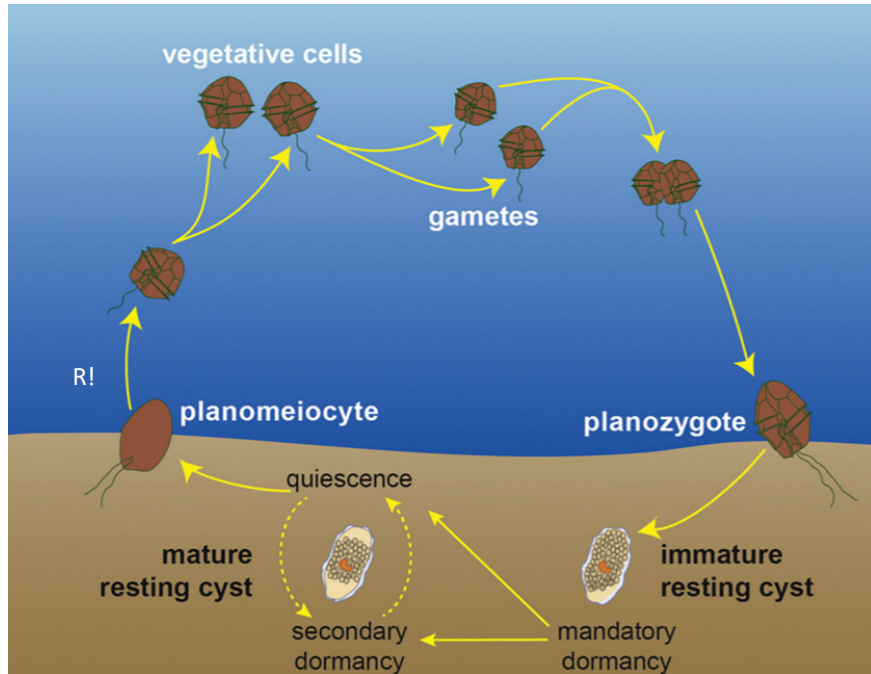


Obrázek 6 – (A) *Pyrodinium bahamense*; převzato z <https://www.pinterest.com/pin/344103227760058928/>, (B) živá cysta s červeným akumulčním tělískem, měřítko = 20 µm; převzato z Morquecho (2019).

Pyrodinium bahamense je známé především kvůli produkci saxitoxinů (neurotoxiny). Tento typ toxinů způsobuje onemocnění PSP, z anglického paralytic shellfish poisoning (Morquecho, 2019). Mezi první příznaky tohoto onemocnění patří necitlivost kolem rtů, která je způsobená absorpcí PSP toxinů přes sliznici v dutině ústní. Necitlivost se následně šíří do ostatních částí obličeje a krku. Další časté symptomy jsou píchání v konečcích prstů, bolesti hlavy, nevolnost a zvracení (Kao 1993). *Pyrodinium bahamense* způsobilo více lidských onemocnění a úmrtí než kterýkoliv jiný druh obrněnek. Propuknutí onemocnění PSP související s *P. bahamense* v zálivu Tehuantepec (Mexiko) v letech 1989 až 2007 způsobilo 200 případů otrav u lidí s 15 úmrtími (Morquecho, 2019). Škodlivý účinek těchto organismů by se mohl zvýšit a rozšířit se v důsledku rostoucí eutrofizace moří (Heisler et al., 2008) a klimatické změny oceánů (Hallegraeff, 2010).

Tato obrněnka tvoří vodní květy (HAB, z anglického harmful algal blooms) v tropických a subtropických oblastech, zejména v jihovýchodní Asii (Azanza & Max Taylor, 2001). Vodní květy *P. bahamense* jsou obecně neperiodické a nepředvídatelné (Usup et al., 2012). Ovšem v delším časovém horizontu existují určité důkazy, že přemnožení tohoto druhu se překrývá s vrcholy cyklů El Niño a La Niña (Phlips et al., 2006) a výskyt těchto květů je během letního období dešťů (červen až září; Usup et al., 2012).

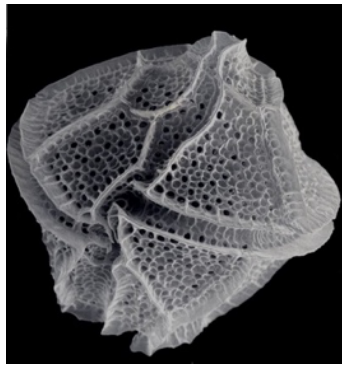
Životní cyklus u *Pyrodinium bahamense* je haplontní (viz obr. 7), tj. většina stádií má poloviční počet chromozomů. Před degradací vodního květu tohoto druhu začnou haploidní vegetativní buňky fungovat jako gamety, které se začnou sexuálně rozmnožovat. Nejdříve dojde k plazmogamii, která je následovaná karyogamií. Po kopulaci gamet vznikne diploidní planozygota, která se dokáže pohybovat díky přítomnosti dvou bičíků. Planozygota se encystuje a vytvoří klidové stádium – hypnozygotu (Anderson & Wall, 1978). Klidové cysty musí projít stádiem dormance. Teprve po tomto období mohou cysty excystovat za vzniku diploidního planomeiocyta. Toto stádium projde redukčním dělením (meiózou), čímž opět vzniknou haploidní vegetativní buňky s vytvořenou schránkou. Vegetativní buňky se rozmnožují binárním dělením (mitózou), kvůli kterému znovu vzniká vodní květ (von Stosch, 1973).



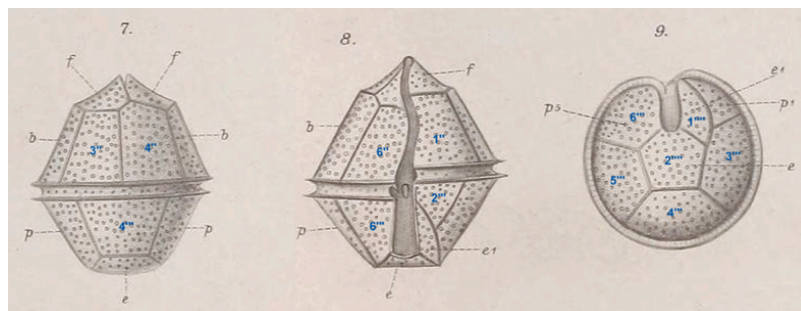
Obrázek 7 – Životní cyklus *Pyrodinium bahamense*, haploidní vegetativní buňky začnou produkovat gamety, které spolu kopulují za vzniku diploidní planozygoty, toto stádium následně projde encystací za vzniku klidových cyst, které před excystací musí projít dormancí, po excystaci vzniká diploidní planomeiocyta, který se po meióze (R!) promění na haploidní vegetativní buňky s vytvořenou schránkou, vegetativní buňky se rozmnožují nepohlavním binárním dělením (mitózou); převzato z Brosnahan et al. (2020).

4.3. *Lingulodinium polyedra*

Lingulodinium polyedra (viz obr. 8) je mořská obrněnka, která je modelovým organismem pro studium cirkadiálních hodin bioluminiscence (Hastings, 2007). Svou pozornost si získává i kvůli faktu, že je producentem yessotoxinů (YTX), které vyvolávají podobné příznaky jako je tomu u onemocnění PSP (Paz et al., 2004). Tento organismus, podobně jako *P. bahamense*, tvoří škodlivé vodní květy (HAB, z anglického harmful algal blooms) v různých oblastech světa, hlavně podél pobřeží jižní Kalifornie (Kudela & Cochlan, 2000). Morfologii *L. polyedra* ilustroval Friedrich von Stein (viz obr. 9). Z ilustrací je patrné, že obrys buněk má tvar sedmiúhelníku a povrch thény je pórovitý. Epithéka je tvořena 9 celulózovými destičkami, hypothéka jen sedmi (Tillmann et al., 2021). Živí se mixotrofně (Yarimizu et al., 2017).

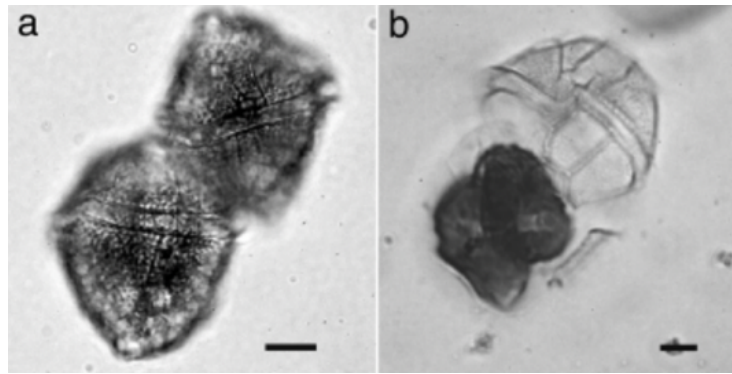


Obrázek 8 – *Lingulodinium polyedra*; převzato z <https://www.pinterest.fr/pin/309622543105766281/>.



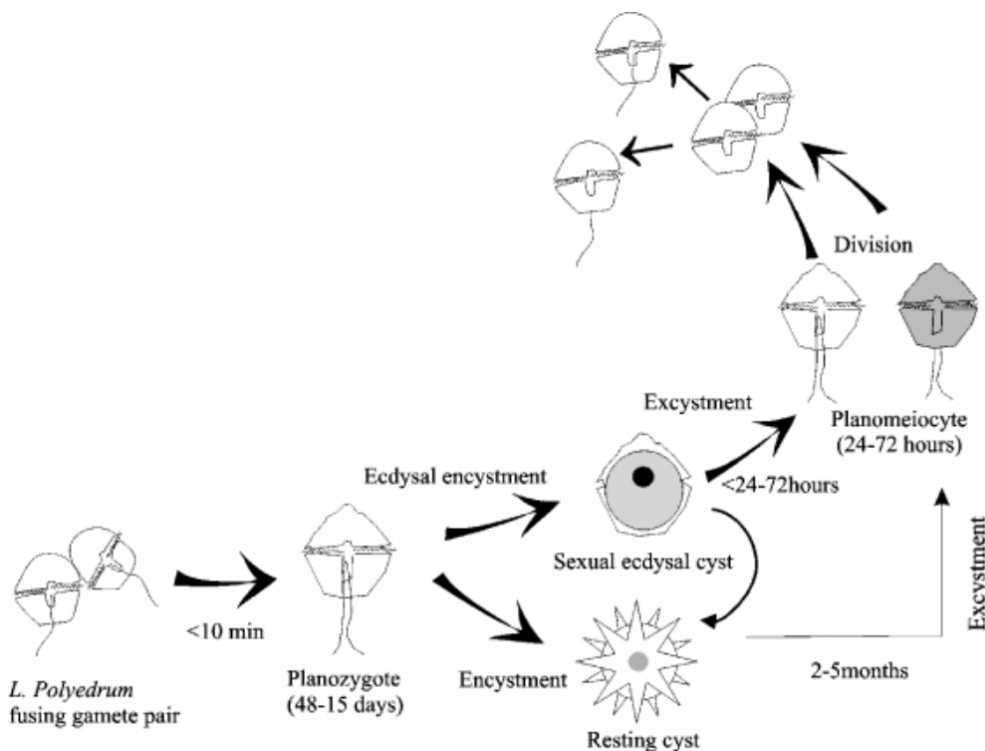
Obrázek 9 – Původní ilustrace *Lingulodinium polyedra* od Friedricha von Steina, převzato z Tillmann et al. (2021).

Životní cyklus *Lingulodinium polyedra* zahrnuje pohlavní i nepohlavní fázi. Nepohlavní rozmnožování (viz obr. 10) se odehrává sdílením thékální destičky, což je proces známý jako desmoschíza. Za nepříznivých podmínek mohou vegetativní buňky *L. polyedra* podstoupit ekdyzi („svléknutí“ ze schránky). Dojde tak k uvolnění protoplastu přes epithéku a následně začne dělení protoplastu za vzniku dvou holých buněk. Tento proces se nazývá jako eleuteroschíza (Figueroa & Bravo, 2005).



Obrázek 10 – Nepohlavní stádia *Lingulodinium polyedra*; **a** desmoschiza; **b** eleuteroschiza; měřítko = 10 μm ; převzato z Figueroa & Bravo (2005).

Během pohlavního rozmnožování (viz obr. 11) dojde k fúzi dvou buněk *L. polyedra* za vzniku planozygoty. Toto stádium projde encystací a vytvoří se tak klidové cysty, které přečkávají různé nepříznivé podmínky. Cysty projdou po určitém období dormance excystací za vzniku planomeiocyty a následně dojde k jeho rozdělení. Planozygota může podlehnout i tzv. ekdyzální encystaci, při níž vznikne sexuální ekdyzální cysta. Tento typ cysty může po pár hodinách projít excystací za vzniku planomeiocyty, nebo může dojít k přeměně za vzniku klidové cysty (Figueroa & Bravo, 2005).



Obrázek 11 – Pohlavní rozmnožovací cyklus *Lingulodinium polyedra*; po fúzi dvou buněk vznikne planozygota, která projde encystací za vzniku klidových cyst, nebo za vzniku sexuálních ekdyzálních cyst, které po pár hodinách mohou vyklíčit v planomeiocyty, anebo ekdyzální cysty mohou přejít v klidové cysty; po přečkání dormance projdou klidové cysty excystací za vzniku planomeiocyty, který se začne dělit; převzato z Figueroa & Bravo (2005).

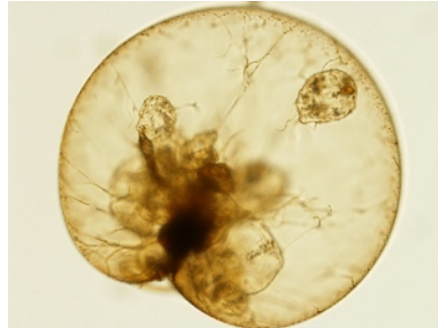
4.4. *Noctiluca scintillans*

Noctiluca scintillans (viz obr. 12) je velká obrněnka, jejíž velikost je mezi 200–600 μm (Harrison et al., 2011). Rozlišují se dvě formy, tzv. červená *N. scintillans* a zelená *N. scintillans* (Balch & Haxo, 1984). Zelená forma *N. scintillans* obsahuje ve svých vakuolách velké množství zeleného fotosyntetického symbionta *Pedinomonas noctilucae* (Sweeney, 1976). Tato zelená forma je v důsledku symbiózy mixotrofní a je rozšířená hlavně v tropických vodách. Naproti tomu červená forma *N. scintillans* je heterotrofní a běžně se vyskytuje v pobřežních oblastech od mírného až po subtropický pás. Oranžovo-červená barva této formy je způsobena karotenoidy, které *N. scintillans* získává z kořisti nebo syntézou *de novo* (Balch & Haxo, 1984). *Noctiluca scintillans* hraje důležitou roli v potravních sítích jako zdroj potravy (Sulkin et al., 1998), ale i jako predátor, například predátor rozsivek (Kjørboe & Titelman, 1998). *Noctiluca scintillans* má vyvinutý výběžek, na jehož povrchu shromažďuje částice potravy. Tyto částice se přilepí buď na apex výběžku, nebo jejich připojení zprostředkuje lepivý hlen, který je vylučován výběžkem. Následně obrněnka výběžek s částicemi potravy ohne do cytostomu a dojde k fagocytóze (Kjørboe & Titelman, 1998).

Tato světélkující obrněnka rovněž způsobuje velké vodní květy neboli red-tides. Přestože *N. scintillans* není toxická, vodní květy této obrněnky jsou škodlivé. Jednou z příčin škodlivosti vodních květů je vyčerpání kyslíku z okolního prostředí (Huang & Qi, 1997). Další příčinou je potenciální toxicita amoniaku (NH_4^+), neboť jsou tyto obrněnky schopné akumulovat velké množství NH_4^+ . Po odumření buňky se nashromážděný amoniak uvolní do okolního prostředí, což začne být toxické pro další organismy (Okaichi & Nishio, 1976). Dalším důvodem toxicity vodních květů je přenášení fyto toxinů touto obrněnkou. *Noctiluca scintillans* konzumuje planktonní mikrořasy rodu *Dynophysis* a *Pseudo-nitzschia*, které produkují toxiny. Tyto mikrořasy si *N. scintillans* uchovává ve svých potravních vakuolách. Výše uvedené toxiny jsou pro *N. scintillans* netoxické, což ale neplatí pro organismy, které se touto obrněnkou živí. Pokud tedy dojde k pozření *N. scintillans*, dojde tak k otravě daného predátora (Escalera et al., 2007).

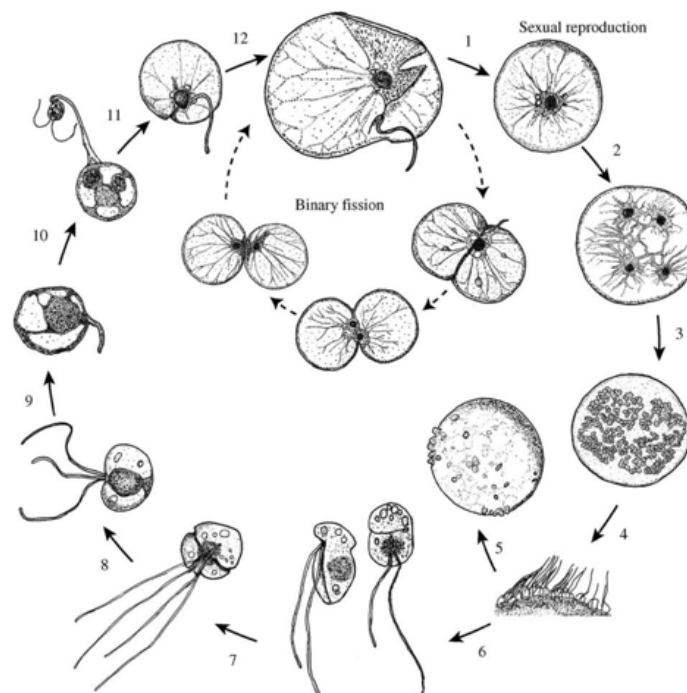
Noctiluca scintillans kóduje proteiny účastníci se bioluminiscence jinak než zbytek obrněnek. Zatímco ostatní druhy obrněnek obsahují oddělenou luciferázu (LCF) a protein vázající luciferin (LBP; Li & Hastings, 1998), tak *N. scintillans* obsahuje fúzovaný LCF-LBP. Tento enzym spojený s LBP je kódovaný genem *lcf/lbp* (Liu & Hastings, 2007). Je pravděpodobné, že se jedná o uspořádání, které bylo typické pro předky dnešních

obrněnek. *Noctiluca scintillans* je totiž bazální taxon mezi obrněnkami (Janouškovec et al., 2017). Předpokládá se tedy, že se gen *lcf/lbp* u vývojově pokročilých druhů obrněnek rozštěpil na dva samostatné geny, což umožňuje individuální regulaci každého genu, respektive proteinu (Liu & Hastings, 2007).



Obrázek 12 – *Noctiluca scintillans*; převzato z <https://www.flickr.com/photos/myfwc/5808181396>.

Životní cyklus *Noctiluca scintillans* (viz obr. 13) je diplontní, tzn., že haploidní jsou pouze gamety, resp. izogamety. Tento typ gamet se promění v planozygotu, která obsahuje 4 bičíky. Tyto bičíky jsou následně během dalšího vývoje odhozeny. Dospělá fáze se nazývá trofont. *Noctiluca scintillans* se rozmnožuje i nepohlavně, a sice binárním dělením (Fukuda & Endoh, 2006).



Obrázek 13 – Životní cyklus *Noctiluca scintillans*, je zobrazen průběh nepohlavního binárního dělení a sexuální reprodukce; **1** zahájení gametogeneze; **2** dvě po sobě jdoucí jaderná dělení, meióza; **3** dělení progamet na povrchu buňky; **4** přeměna v gamety; **5** prázdná mateřská buňka po uvolnění gamet; **6** izogamety se dvěma bičíky; **7** planozygota se čtyřmi bičíky; **8** přeměna do fáze trofonta, dochází ke ztrátě bičíků; **9** střední fáze během vývoje v dospělém trofontu, začíná se tvořit vnější schránka a výběžek; **10** dokončení tvorby výběžku, díky kterému dochází k fagotrofii; **11** konečná fáze transformace, jejímž výsledkem je miniaturní trofont; **12** dospělý trofont, který je schopný binárního dělení; převzato z Fukuda & Endoh (2006).

5. Faktory ovlivňující intenzitu bioluminiscence

U fotosyntetických obrněnek je bioluminiscence a její intenzita závislá na diurnálním rytmu, který je řízený endogenními cirkadiánními hodinami (Sweeney & Hastings, 1957). Regulace bioluminiscence cirkadiánními hodinami byla studována u dvou druhů obrněnek, a sice u *Lingulodinium polyedra* a *Pyrocystis* sp. Zjistilo se, že se mechanismus regulace bioluminiscence u těchto dvou obrněnek výrazně liší (Widder & Case, 1982, Fritz et al., 1990).

U *Lingulodinium polyedra* je množství luciferázy (LCF) a luciferin vázajícího proteinu (LBP) translačně regulováno. Množství mRNA obou genů pro syntézu LCF a LBP zůstává stabilní během cyklu světlo-tma (Mittag et al., 1998). LCF, LBP, luciferin a samotné scintilony jsou degradovány za úsvitu a poté začnou být syntetizovány *de novo* za soumraku (Dunlap & Hastings, 1981). Neustálá syntéza a degradace výše uvedených proteinů je energeticky velmi náročný proces. *Lingulodinium polyedra* má pravděpodobně nadbytek energie, který zajišťuje fotosyntéza probíhající v samotných buňkách. Je známo, že dusík je pro mnohé organismy limitujícím prvkem a výjimkou nejsou ani obrněnky. Co je tedy zdrojem dusíku pro obrněnky? Bylo zjištěno, že v určitých částech cyklu světlo-tma jsou využívány proteiny s rozdílnou funkcí. Například přes den je u *L. polyedra* používán enzym glycerinaldehyd dehydrogenáza (GAPDH) a přes noc zase enzym luciferáza (LCF) a protein vázající luciferin (LBP). Pokud tedy dojde k degradaci GAPDH, tak jsou uvolněné aminokyseliny recyklovány a použity na syntézu LCF či LBP (Hastings, 2013).

Mechanismus regulace bioluminiscence u *Pyrocystis* sp. je zcela odlišný ve srovnání s *L. polyedra*. Množství scintilonů s obsaženým luciferinem, luciferázou a *lcf* mRNA se nemění (Knaust et al., 1998). Místo toho dochází během noci k transportu scintilonů k periférii buňky výměnou za chloroplasty, čímž se dosáhne vyšší intenzity bioluminiscence. Během dne jsou naopak scintilony udržovány v nitru buňky, aby nedocházelo k jejich stimulaci (Widder & Case, 1982). U *Pyrocystis lunula* neprobíhá degradace ani zpětná syntéza LCF a LBP, jako je tomu u *L. polyedra*. *Pyrocystis lunula* migruje do větších hloubek, kde se nachází mnohem větší množství dusíku. Proto tímto limitujícím prvkem nemusí šetřit, a nemusí tak recyklovat LCF a LBP (Hastings, 2013).

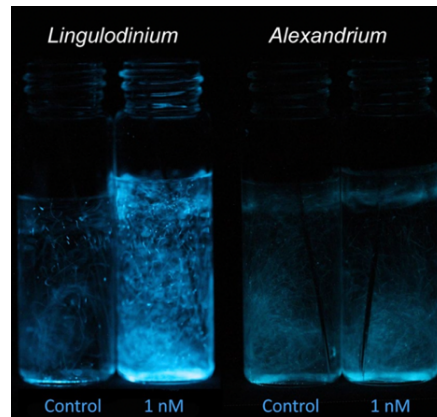
Vedle cirkadiánních hodin je intenzita bioluminiscence během dne snižována také fotoinhibicí (Sweeney et al., 1959). Ta se pravděpodobně vyskytuje u všech obrněnek, tedy u fotoautotrofních i heterotrofních druhů (Sullivan & Swift 1994, Li et al., 1996). Byly objeveny pouze dvě výjimky, u kterých nebyla fotoinhibice pozorována. Jedná

se o *Noctiluca scintillans* (Buskey et al., 1992) a přirozenou populaci *Protoperidinium antarcticum* (Raymond & DeVries, 1976). Většina druhů schopných bioluminiscence je nejcitlivější na modré světlo, které dosahuje nejvyšší intenzity přes den kvůli slunečnímu záření. Toto světlo snižuje senzitivitu obrněnek na mechanickou stimulaci za účelem produkce záblesku, bez ohledu na množství LCF nebo luciferinu v buňce. Zvláštností je, že fotoautotrofní druhy jsou méně citlivé na modré světlo než heterotrofní druhy. Fotoinhibice u fotoautotrofů není tedy tak účinná. Jedna z navržených hypotéz vysvětluje tuto skutečnost tím, že fotoautotrofní druhy mají velké množství fotosyntetických pigmentů (chlorofyl, karotenoidy). Pigmenty mohou zastínit fotoreceptor zodpovědný za fotoinhibici. Kvůli zastínění fotoreceptoru jsou fotoautotrofní druhy méně citlivé na modré světlo a mohou produkovat více záblesků i přes den. Heterotrofní druhy jsou na modré světlo mnohem citlivější, neboť fotosyntetické pigmenty neobsahují, a k zastínění fotoreceptoru tak nedochází. Není známo, co by mohlo být zmíněným fotoreceptorem (Li et al., 1996). Fotoinhibice je považována za důležitou evoluční adaptaci, kdy organismy zbytečně neplýtvají energií na produkci záblesku v době, kdy by nebyl pozorovatelný. Přes noc by tedy po mechanickém podráždění došlo k záblesku, kdežto během dne nikoliv. Dodnes se neví, jakým mechanismem fotoinhibice přesně probíhá (Valiadi & Iglesias-Rodriguez, 2013).

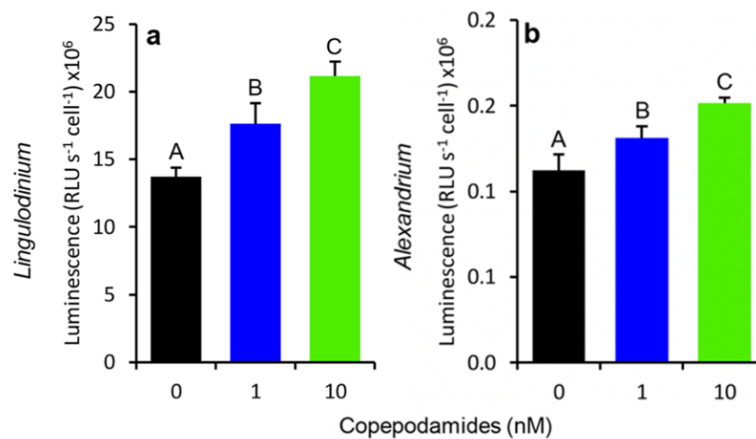
Vedle cirkadiánních rytmů a fotoinhibice mají na intenzitu bioluminiscence vliv i další jevy. Charakteristika záblesku vykazuje u jednotlivých světélkujících obrněnek značné odlišnosti. Bioluminiscence se například liší v délce záblesku mezi různými druhy. Dalším rozdílem je množství vyzářených fotonů během produkce světla (Widder & Case, 1981, Swift et al., 1985). Tyto rozdíly jsou způsobeny například velikostí buňky, neboť počet scintilonů je přímo úměrný velikosti samotné buňky (Buskey & Swift, 1990). Intenzita bioluminiscence je také závislá na fyziologickém stavu jednotlivých buněk, ale i na faktorech prostředí. Ke snížení intenzity bioluminiscence v případě heterotrofních obrněnek dochází při nedostatku potravy (Buskey et al., 1992). U fotosyntetických obrněnek k tomuto trendu dochází v případě nedostatku živin (Esaias et al., 1973).

Intenzita bioluminiscence souvisí i s její funkcí. Produkce záblesků je považována za ochranu před predací. Esaias a Curl (1972) uvádějí, že světélkující obrněnky odolávají lépe žracímu tlaku klanonožců, a tudíž mají nižší ztráty v rámci populace. Jak bylo uvedeno výše, intenzita bioluminiscence je fyziologicky regulována jednak pomocí cirkadiánních hodin (Sweeney & Hastings, 1957), jednak fotoinhibicí (Sweeney et al., 1959). Přítomnost fyziologických regulačních systémů naznačuje, že produkce záblesku je energeticky náročná. K bioluminiscenci tedy dojde pouze při relevantních podnětech (Lindström et al., 2017).

Bylo zjištěno, že na zvýšení intenzity bioluminiscence u *Alexandrium tamarense* a *Lingulodinium polyedra* se podílí sloučeniny, které byly identifikovány jako skupina osmi polárních lipidů, tzv. kopepodamidy (Selander et al., 2015). Nedostatek podnětů od predátorů pravděpodobně způsobuje ztrátu nebo snížení intenzity bioluminiscence v kulturách. Pokud se ovšem do kultivačních nádob přidaly polární lipidy, které klanonožci vylučují, tak došlo ke zvýšení intenzity bioluminiscence jak u *L. polyedra*, tak u *A. tamarense* (viz obr. 14, 15A a 15B; Lindström et al., 2017).



Obrázek 14 – Bioluminiscence u *Lingulodinium polyedra* a *Alexandrium tamarense*; buňky uvedených druhů jsou vystaveny 1nM polárním lipidům (pravé lahvičky), nebo polárním lipidům vystaveny nejsou (kontrolní vzorky, levé lahvičky); *L. polyedra* produkuje prokazatelně více záblesků v přítomnosti lipidů ve srovnání s kontrolním vzorkem; převzato z Lindström et al. (2017).



Obrázek 15 – Intenzita bioluminiscence u *Lingulodinium polyedra* (A) a *Alexandrium tamarense* (B); uvedené druhy nebyly vystaveny žádným polárním lipidům, následně byly vystaveny 1nM a 10nM koncentracím polárních lipidů; intenzita bioluminiscence se u obou druhů zvyšovala se vzrůstající koncentrací polárních lipidů; převzato z Lindström et al. (2017).

6. Funkce bioluminiscence u obrněnek

Bioluminiscence byla v mořském prostředí studována především u bakterií a hlubokomořské fauny. Díky tomuto jevu se organismy mohou například maskovat, bránit se proti predátorům nebo mohou mezi sebou komunikovat během rozmnožování (Haddock et al., 2010). Funkci bioluminiscence u obrněnek nebylo věnováno tolik pozornosti, a proto jsou navržené hypotézy podpořeny minimem experimentálních důkazů (Fajardo et al., 2020).

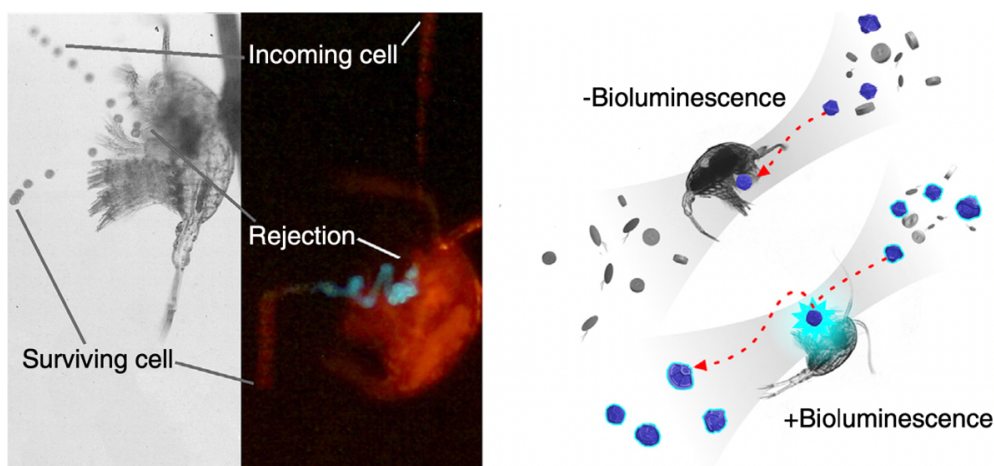
Vědci McElroye a Seliger (1962) navrhli hypotézu, která nastiňuje primární funkci bioluminiscence. V období, kdy začala narůstat koncentrace atmosférického kyslíku, se organismy musely bránit jeho toxickým účinkům. Je dobře známo, že molekulární kyslík je toxický pro živé organismy. Koncentrace kyslíku, která už působí toxicky, je u každého organismu jiná. Tato teorie tedy naznačuje, že původní funkcí bioluminiscence byla detoxikace organismu od reaktivních forem kyslíku, které vznikají v průběhu různých biochemických reakcí (ROS, z anglického reactive oxygen species; Timmins et al., 2001). V kapitole o produkci záblesku uvnitř buňky bylo uvedeno, že biochemická reakce zodpovědná za produkci záblesku využívá molekulární kyslík k oxidaci luciferinu (substrátu) v reakci katalyzované enzymem luciferázou (Nakamura et al., 1989). Je rovněž známo, že reakce bioluminiscence je vysoce exergonická a díky rovnovážné konstantě pak tato reakce probíhá přednostně ve prospěch produktů. Jedná se v podstatě o nevratnou reakci, která spotřebovává molekulární kyslík. Z výše uvedeného mechanismu vyplývá, že koncentrace kyslíku může být výrazně snížena působením i velmi nízkých koncentrací luciferinu a luciferázy. Tím je zajištěna ochrana organismu proti oxidaci kyslíkem (Timmins et al., 2001). Bylo i experimentálně prokázáno, že bioluminiscence může probíhat při velmi nízkých koncentracích kyslíku (Hastings, 1952).

V předešlém odstavci byla zmíněna pravděpodobná primární funkce bioluminiscence. Tato funkce ale byla v průběhu evoluce nahrazena jinými adaptivními funkcemi, které pozorujeme nyní. Bioluminiscence má u obrněnek ochrannou funkci vůči predátorům (Abrahams & Townsend, 1993). Byly navrženy tři hypotézy této antipredační obrany, a sice aposematické varování (aposematic warning), úleková reakce (startle response) a „poplašný systém“ (burglar alarm).

První hypotéza (Hastings & Morin, 1991) uvádí, že produkce záblesků nahrazuje aposematické zbarvení v prostředí, kde je šero nebo tma. Tyto záblesky mají varovat potenciální predátory před kořistí, která je jedovatá, nebezpečná či jiným způsobem nejedlá.

Tímto způsobem se predátoři naučí spojovat záblesk s nežádoucí vlastností kořisti, což vede i ke snížení predančního tlaku na světélkující organismy. Rozšířením této teorie jsou tzv. Batesovské mimikry. V tomto případě kořist pouze napodobuje nebezpečné vlastnosti, přičemž sama o sobě nebezpečná není. Díky naučenému chování predátorů vůči výstražným zábleskům má kořist větší šanci na přežití (Schantz 1971). Teorie aposematického varování byla prokázána u larev světlušek (Underwood et al., 1997) či u mnohonožek (Marek et al., 2011), ale nebyla prokázána u obrněnek. Respektive se nenašel metodický postup, jak tuto teorii u obrněnek prokázat. Je těžké od sebe odlišit aposematické varování od úlekové reakce (Hanley & Widder, 2017).

Druhá hypotéza naznačuje, že záblesk predátora (např. klanonožce) vyleká a ten pak kořist zavrhne (Esaias & Curl, 1972). Několik studií popsalo fotofobní reakci mořského zooplanktonu na záblesky světla. Z výsledků studií dále vyplývá, že by bioluminiscence mohla poskytovat evoluční výhodu světélkujícím obrněnkám. Dojde totiž ke snížení predančního tlaku v důsledku odmítnutí kořisti predátorem (Buskey et al., 1983, 1987). V předchozí kapitole o intenzitě bioluminiscence bylo uvedeno, že ke zvýšení intenzity bioluminiscence u *Lingulodinium polyedra* dochází v přítomnosti kopepodamidů (polární lipidy), které jsou vylučovány jejich predátory, a sice klanonožci (Selander et al., 2015). V práci Prevett et al. (2019) byl proveden experiment mezi obrněnkou *L. polyedra*, klanonožcem *Temora longicornis* (predátor) a alternativní kořistí. V práci bylo pozorováno, že pokud nedocházelo k zábleskům, tak *T. longicornis* konzumoval jak nesvětélkující *L. polyedra*, tak alternativní kořist. Pokud však byla detekována přítomnost kopepodamidů vylučovaných *T. longicornis*, tak byl zaznamenán i nárůst intenzity bioluminiscence u *L. polyedra*. Tímto došlo k úlekové reakci predátora na přítomnost záblesků a rovněž došlo ke zvýšení preference alternativní nesvětélkující kořisti (viz obr. 16). Výsledky této studie tedy naznačují, že zvýšená intenzita bioluminiscence v přítomnosti kopepodamidů skutečně účinně chrání *L. polyedra* před klanonožci. Tímto obranným mechanismem pak může populace *L. polyedra* prosperovat vůči konkurenčním druhům.



Obrázek 16 – Úleková reakce (startle response); obrázek nalevo zobrazuje trajektorii a odmítnutí *Lingulodinium polyedra* (incoming a surviving cell, rejection) klanonožcem *Temora longicornis*, který je upevněný na lidském vlasu, a který pomocí končetin vytváří proud, kterým si nahání potravu k ústům; obrázek napravo znázorňuje koncepční model vycházející z výsledků této studie, světélkující kořist je predátorem odmítnuta, zatímco nesvětélkující kořist nikoli; ilustrace od J. Heuschele; převzato z Prevet et al. (2019).

Třetí hypotéza se nazývá jako „poplašný systém“ (burglar alarm) a navrhuje, že pokud se obrněnka dostane do kontaktu s klanonožcem (predátorem), tak zábleskem přiláká predátora vyššího řádu, který klanonožce sežere a obrněnka je zachráněna (Burkenroad, 1943). Tato teorie je založena na laboratorních studiích, které prokazují zvýšenou míru predančního tlaku dravců vyššího řádu vůči zooplanktonu v přítomnosti světélkujících obrněnek (Mesinger & Case, 1992). Navzdory rozšíření této hypotézy se zde vyskytují dva problémy, které nejsou vyřešeny (Hanley & Widder, 2017).

První problém souvisí s intenzitou záblesku, respektive s jednotlivými druhy obrněnek a jejich koncentrací na mililitr vody. Například ve studiích Mensingera a Casea (Mesinger & Case, 1992) a Fleishera a Casea (Fleisher & Case, 1995) byl použit druh obrněnky *Pyrocystis fusiformis*. Jedná se o zhruba 1 mm velkou obrněnku, která produkuje jeden z nejjasnějších záblesků (10^{10} fotonů na jednu buňku; Widder & Case, 1981) a koncentrace tohoto druhu se pohybovala v rozmezí 1–30 buněk/ml vody. Ovšem existují i takové druhy obrněnek, které jsou mnohem menší a jejich intenzita záblesku je řádově nižší, než je tomu u *P. fusiformis* (Buskey et al., 1983). Poprvé na tento problém upozornili vědci Esaias a Curl (Esaias & Curl, 1972). Přišli totiž s myšlenkou, že je velmi nepravděpodobné, aby predátor vyššího řádu dokázal lokalizovat pozici herbivora z jednoho krátkého záblesku obrněnky. Experimenty prokázaly, že se účinnost predace dravců vyššího řádu vůči zooplanktonu zlepšila v přítomnosti obrněnky *Pyrocystis noctiluca*, jejíž záblesky jsou intenzivní. Koncentrace této obrněnky byla pouhých 5 buněk/ml vody. V přítomnosti méně intenzivních záblesků *Lingulodinium polyedra* se účinnost predace významně nezlepšila, pokud koncentrace tohoto druhu nepřesáhla hodnotu 40 buněk/ml vody (Cusick & Widder, 2014).

Druhý problém spočívá v neprokázané selektivní výhodě světélkujících obrněnek vůči predátorům. Výše uvedené studie (Mesinger & Case, 1992, Fleisher & Case, 1995) jasně prokázaly, že došlo k zesílení predačního tlaku dravců vyššího řádu (hlavonožci, kostnatí – Teleostei) vůči nesvětélkující kořisti (klanonožci) v přítomnosti záblesků obrněnek. Nebylo však zaznamenáno snížení predačního tlaku na samotných světélkujících obrněnkách. Lze si tedy obtížně představit evoluci bioluminiscence jako „poplašný systém“ vůči predátorům, pokud okamžitě nepřináší selektivní výhodu svým nositelům, a sice světélkujícím obrněnkám (Hanley & Widder, 2017).

Na základě výše uvedených pozorování byla navržena hypotéza, která naznačuje, že pro spuštění poplachu (burglar alarm) u obrněnek s méně jasnými záblesky musí být překročena určitá hodnota koncentrace počtu buněk na mililitr vody. To znamená, že bioluminiscence musí dosáhnout určité intenzity, aby predátor vyššího řádu dokázal spolehlivě lokalizovat polohu herbivora a zkonsumovat ho. Pokud nedojde k překročení určité prahové hodnoty koncentrace, tak záblesk není dostatečně intenzivní a bioluminiscence má spíše funkci aposematického varování (aposematic warning), nebo úlekové reakce (startle response; Hanley & Widder, 2017).

Teorii „poplašného systému“ se v 90. letech zabývaly dvě významné studie (Mesinger & Case, 1992, Abrahams & Townsend, 1993). Obecně tyto studie porovnávaly míru predačního tlaku predátorů vyššího řádu na zooplankton v přítomnosti světélkujících obrněnek. Intenzita bioluminiscence těchto obrněnek se lišila v průběhu cyklu světlo-tma. V uvedených studiích se došlo k závěrům, že v přítomnosti záblesků obrněnek došlo ke zvýšení predace dravců vyššího řádu na zooplankton (Mesinger & Case, 1992, Abrahams & Townsend, 1993). Výsledky těchto dvou studií se shodovaly, i když každá studie použila jiné experimentální organismy. Abrahams & Townsend (1993) použili obrněnku *Lingulodinium polyedra*, klanonožce *Tigriopus japonicus* a koljušku tříostnou jako predátora vyššího řádu. Mesinger & Case (1992) použili obrněnku *Pyrocystis fusiformis*, vidlonožce *Holmesimysis costata* a žabohlavce svítivého (*Porichtys notatus*) jako predátora vyššího řádu. Obě tyto studie se však dopustily dvou významných experimentálních chyb. První chybou byly chybějící údaje o koncentraci obrněnek na začátku a na konci každého experimentu. Nebylo tedy možné posoudit jejich úbytek, tj. zda na ně byl vyvíjen nižší žrací tlak (Mesinger & Case, 1992, Abrahams & Townsend, 1993). Druhá a závažnější chyba se týkala výběru experimentálních organismů. V uvedených studiích byly použity organismy, které se v přírodě nemohly potkat, tj. v žádném přírodním prostředí se nevyskytují současně. Například Mesinger & Case (1992) použili vidlonožce a žabohlavce ze Santa Barbary v Kalifornii,

ale *P. fusiformis* se v této oblasti vůbec nevyskytuje. Další problém spočívá v tom, že i když byly použity organismy ze stejné oblasti, nemusejí se přirozeně setkat kvůli sezónním obdobím. Pro pochopení ekologického významu bioluminiscence je potřeba více *in situ* studií (Marcinko et al., 2013).

7. Závěr

Bioluminiscence je fenoménem, díky kterému mohou organismy vyzařovat světelné záblesky. Je to jev, který se během evoluce života vyvinul čtyřicetkrát nezávisle na sobě, a i přes jeho vysokou energetickou náročnost se dochoval do dnešních dní. Je to jasný důkaz, že bioluminiscence má své evoluční opodstatnění. Schopnost produkovat světlo mají jak mikroskopické, tak i okem viditelné organismy, a to jak v moři, tak i na souši. Nejdůležitější protistní linií, která je zodpovědná za většinu pozorovatelné bioluminiscence v mořích a oceánech, jsou právě obrněnky.

Mezi obrněnkami se nachází zhruba 6 % světélkujících fotoautotrofních i heterotrofních druhů. Mezi ty nejvýznamnější patří například *Lingulodinium polyedra*, *Noctiluca scintillans*, *Pyrodinium bahamense*, *Pyrocystis lunula*, *Pyrocystis fusiformis* či *Alexandrium tamarense*. Jedná se také většinou o druhy, které zároveň způsobují vodní květy a produkují nejrůznější toxiny. Tyto toxiny se následně kumulují v rámci potravního řetězce a může dojít až k otravě samotných lidí.

Biochemická podstata bioluminiscence u obrněnek spočívá v oxidaci substrátu (luciferinu) molekulárním kyslíkem. Reakce je vždy katalyzovaná enzymem luciferázou. Některé druhy mají navíc protein vázající luciferin (LBP), který brání spontánní autooxidaci luciferinu. Celá reakce probíhá ve specializovaných organelách zvaných scintilony. Před vytvořením záblesku musí dojít k okyselení scintilonů, aby mohla reakce proběhnout. Proto jsou scintilony napojené přímo na vakuoly, které fungují jako zdroj protonů sloužících k okyselení. Výsledkem celé této kaskády biochemických dějů je produkce světla o přibližné vlnové délce 475 nm, což odpovídá modré barvě. Co mě osobně zaujalo, bylo zjištění, že celý mechanismus od zaregistrování mechanického stimulu až po produkci záblesku trvá pouhých 15–20 ms.

Intenzita bioluminiscence je ovlivňována řadou faktorů a je rovněž regulována různými mechanismy. Intenzita záblesku se například liší mezi jednotlivými druhy obrněnek, ať už v délce trvání záblesku, anebo počtem vyzářených fotonů. Dalším faktorem je fyziologický stav buňky nebo podmínky prostředí. Mezi hlavní regulátory intenzity bioluminiscence patří cirkadiánní hodiny a fotoinhibice. Cirkadiánní hodiny byly studovány zejména u *Lingulodinium polyedra* a *Pyrocystis* sp. Zjistilo se, že se mechanismus regulace bioluminiscence u těchto dvou druhů výrazně liší. U *L. polyedra* dochází k degradaci scintilonů a všech důležitých substancí za úsvitu a k jejich syntéze *de novo* za soumraku. Mechanismus u *Pyrocystis* sp. je naprosto odlišný. Nedochozí k žádné degradaci, ani syntéze

scintilonů a v něm obsažených komponent. Během cyklu světlo-tma dochází pouze k přemísťování scintilonů. V průběhu dne se nacházejí uvnitř buňky a v noci se vyskytují na periferii buňky, aby byl záblesk dobře viditelný. Dalším regulátorem intenzity záblesků je již zmíněná fotoinhibice. Většina obrněnek je citlivá na modré světlo, které způsobuje sníženou senzitivu vůči mechanickým stimulům. Tudíž nedochází k produkci záblesků během dne. Díky fotoinhibici tak obrněnky zbytečně neplýtvají energií na produkci záblesků přes den, kdy by nebyly viditelné. Zde je prostor pro budoucí výzkum, neboť není objasněný mechanismus, kterým fotoinhibice probíhá. Není známý ani fotoreceptor, který je zodpovědný za fotoinhibici.

Je pravděpodobné, že bioluminiscence v době zvyšování koncentrace atmosférického kyslíku sloužila k odstraňování reaktivních forem kyslíku. V dnešní době má bioluminiscence u obrněnek spíše ochrannou funkci vůči predátorům. Funkci bioluminiscence u obrněnek nebylo věnováno tolik pozornosti a navržené hypotézy jsou prozatím podpořeny minimem experimentálních důkazů. Mezi nejpravděpodobnější hypotézu, která má podporu i v experimentálních datech, je hypotéza o „poplašném systému“ (burglar alarm). Pokud se obrněnka vyskytuje v přítomnosti svého predátora (např. klanonožce), tak začne produkovat záblesky, kterými přivolá predátora vyššího řádu. Studiím zkoumajícím tuto hypotézu bylo vytýkáno několik nepřesností. Tou nejzávažnější výtkou bylo použití experimentálních organismů, které se buď v přírodě vyskytují na různých stanovištích, nebo se sice vyskytují na stejném stanovišti, ale v jinou dobu. Tudíž se tyto zkoumané organismy nemohly potkat. Pro pochopení významu bioluminiscence u obrněnek vyplývá, že je potřeba více *in situ* studií.

8. Reference

- Abrahams, M. V., & Townsend, L. D. (1993). Bioluminescence in Dinoflagellates: A Test of the Burgular Alarm Hypothesis. *Ecology*, 74(1), 258–260.
- Akimoto, H., Wu, C., Kinumi, T., & Ohmiya, Y. (2004). Biological rhythmicity in expressed proteins of the marine dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum* demonstrated by chronological proteomics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315(2), 306–312.
- Anderson, D. M., & Wall, D. (1978). Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *Journal of Phycology*, 14(2), 224–234.
- Azanza, R. V., & Max Taylor, F. J. R. (2001). Are *Pyrodinium* Blooms in the Southeast Asian Region Recurring and Spreading? A View at the End of the Millennium. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 30(6), 356–364.
- Balch, W. M., & Haxo, F. T. (1984). Spectral properties of *Noctiluca miliaris* Suriray, a heterotrophic dinoflagellate. *Journal of Plankton Research*, 6(3), 515–525.
- Brosnahan, M. L., Fischer, A. D., Lopez, C. B., Moore, S. K., & Anderson, D. M. (2020). Cyst-forming dinoflagellates in a warming climate. *Harmful Algae*, 91, 101728.
- Burkenroad, M. D. (1943). A possible function of bioluminescence. *Journal of Marine Research*, 5(2), 161–164.
- Buskey, E., Mills, L., & Swift, E. (1983). The effects of dinoflagellate bioluminescence on the swimming behavior of a marine copepod. *Limnology and Oceanography*, 28(3), 575–579.
- Buskey, E. J., Mann, C. G., & Swift, E. (1987). Photophobic responses of calanoid copepods: possible adaptive value. *Journal of Plankton Research*, 9(5), 857–870.
- Buskey, E. J., & Swift, E. (1990). An encounter model to predict natural planktonic bioluminescence. *Limnology and Oceanography*, 35(7), 1469–1485.
- Buskey, E. J., Strom, S., & Coulter, C. (1992). Bioluminescence of heterotrophic dinoflagellates from Texas coastal waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 159, 37–49.
- Cusick, K. D., & Widder, E. A. (2014). Intensity differences in bioluminescent dinoflagellates impact foraging efficiency in a nocturnal predator. *Bulletin of Marine Science*, 90(3), 797–811.
- DeSa, R., & Hastings, J. W. (1968). The Characterization of Scintillons. Bioluminescent particles from the marine dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*. *Journal of General Physiology*, 51(1), 105–122.

- Dunlap, J. C., & Hastings, J. W. (1981). The biological clock in *Gonyaulax* controls luciferase activity by regulating turnover. *Journal of Biological Chemistry*, 256(20), 10509–10518.
- Dunlap, J. C., Hastings, J. W., & Shimomura, O. (1981). Dinoflagellate luciferin is structurally related to chlorophyll. *FEBS Letters*, 135(2), 273–276.
- Elbrächter, M., & Drebes, G. (1978). Life cycles, phylogeny and taxonomy of *Dissodinium* and *Pyrocystis* (Dinophyta). *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, 31(3), 347–366.
- Esaias, W. E., & Curl, H. C. (1972). Effect of dinoflagellate bioluminescence on copepod ingestion rates. *Limnology and Oceanography*, 17(6), 901–906.
- Esaias, W. E., Curl, H. C., & Seliger, H. H. (1973). Action spectrum for a low intensity, rapid photoinhibition of mechanically stimutable bioluminescence in the marine dinoflagellates *Gonyaulax catenella*, *G. acatenella*, and *G. tamarensis*. *Journal of Cellular Physiology*, 82(3), 363–372.
- Escalera, L., Pazos, Y., Morono, Á., & Reguera, B. (2007). *Noctiluca scintillans* may act as a vector of toxigenic microalgae. *Harmful Algae*, 6(3), 317–320.
- Fajardo, C., De Donato, M., Rodulfo, H., Martinez-Rodriguez, G., Costas, B., Mancera, J. M., & Fernandez-Acero, F. J. (2020). New Perspectives Related to the Bioluminescent System in Dinoflagellates: *Pyrocystis lunula*, a Case Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1784.
- Figueroa, R. I., & Bravo, I. (2005). Sexual reproduction and two different encystment strategies of *Lingulodinium polyedrum* (Dinophyceae) in culture. *Journal of Phycology*, 41(2), 370–379.
- Fleisher, K. J., & Case, J. F. (1995). Cephalopod Predation Facilitated by Dinoflagellate Luminescence. *The Biological Bulletin*, 189(3), 263–271.
- Fogel, M., & Hastings, J. W. (1971). A Substrate-Binding Protein in the *Gonyaulax* Bioluminescence reaction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 142, 310–321.
- Fogel, M., & Hastings, J. W. (1972). Bioluminescence: Mechanism and Mode of Control of Scintillon Activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 69(3), 690–693.
- Fritz, L., Morse, D., & Hastings, J. W. (1990). The circadian bioluminescence rhythm of *Gonyaulax* is related to daily variations in the number of light-emitting organelles. *Journal of Cell Science*, 95, 321–328.
- Fukuda, Y., & Endoh, H. (2006). New details from the complete life cycle of the red-tide dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (Ehrenberg) McCartney. *European Journal of Protistology*, 42(3), 209–219.

- Gedaria, A. I., Luckas, B., Reinhardt, K., & Azanza, R. V. (2007). Growth response and toxin concentration of cultured *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* to varying salinity and temperature conditions. *Toxicon*, 50(4), 518–529.
- Graham, J. M., Kent, A. D., Lauster, G. H., Yannarell, A. C., Graham, L. E., & Triplett, E. W. (2004). Seasonal Dynamics of Phytoplankton and Planktonic Protozoan Communities in a Northern Temperate Humic Lake: Diversity in a Dinoflagellate Dominated System. *Microbial Ecology*, 48(4), 528–540.
- Graham, L. E., Graham, J. M., Wilcox, L. W., & Cook, M. E. (2016). Dinoflagellates. In *Algae* (3rd edition); LJLM Press: Madison, 202–232.
- Haddock, S. H. D., Moline, M. A., & Case, J. F. (2010). Bioluminescence in the Sea. *Annual Review of Marine Science*, 2(1), 443–493.
- Hallegraeff, G. M. (2010). Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology*, 46(2), 220–235.
- Hamman, J. P., & Seliger, H. H. (1972). The mechanical triggering of bioluminescence in marine dinoflagellates: Chemical basis. *Journal of Cellular Physiology*, 80(3), 397–408.
- Hanley, K. A., & Widder, E. A. (2017). Bioluminescence in Dinoflagellates: Evidence that the Adaptive Value of Bioluminescence in Dinoflagellates is Concentration Dependent. *Photochemistry and Photobiology*, 93(2), 519–530.
- Harrison, P. J., Furuya, K., Glibert, P. M., Xu, J., Liu, H. B., Yin, K., Lee, J. H. W., Anderson, D. M., Gowen, R., Al-Azri, A. R., & Ho, A. Y. T. (2011). Geographical distribution of red and green *Noctiluca scintillans*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29(4), 807–831.
- Hastings, J. W. (1952). Oxygen concentration and bioluminescence intensity. I. bacteria and fungi. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 39(1), 1–30.
- Hastings, J. W. (1983). Biological diversity, chemical mechanisms, and the evolutionary origins of bioluminescent systems. *Journal of Molecular Evolution*, 19(5), 309–321.
- Hastings, J. W., & Morin, J. (1991). Bioluminescence. In *Neural and Integrative Animal Physiology*; Prosser, C. L., Ed.; Wiley-Interscience: New York, 131–170.
- Hastings, J. W. (2007). The *Gonyaulax* Clock at 50: Translational Control of Circadian Expression. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 72(1), 141–144.
- Hastings, J. W. (2013). Circadian Rhythms in Dinoflagellates: What Is the Purpose of Synthesis and Destruction of Proteins? *Microorganisms*, 1(1), 26–32.

- Heisler, J., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., Anderson, D. M., Cochlan, W., Dennison, W. C., Dortch, Q., Gobler, C. J., Heil, C. A., Humphries, E., Lewitus, A., Magnien, R., Marshall, H. G., Sellner, K., Stockwell, D. A., Stoecker, D. K., & Suddleson, M. (2008). Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. *Harmful Algae*, 8(1), 3–13.
- Hickman, D., & Edmonds, J. A. (1984). Laser-Induced Marine Bioluminescence Measurements and the Potential for Airborne Remote Sensing. *Remote Sensing of Environment*, 15, 77–89.
- Huang, C., & Qi, Y. (1997). The abundance cycle and influence factors on red tide phenomena of *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae) in Dapeng Bay, the South China Sea. *Journal of Plankton Research*, 19(3), 303–318.
- Chen, A. K., Latz, M. I., Sobolewski, P., & Frangos, J. A. (2007). Evidence for the role of G-proteins in flow stimulation of dinoflagellate bioluminescence. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(5), 2020–2027.
- Janouškovec, J., Gavelis, G. S., Burki, F., Dinh, D., Bachvaroff, T. R., Gornik, S. G., Bright, K. J., Imanian, B., Strom, S. L., Delwiche, C. F., Waller, R. F., Fensome, R. A., Leander, B. S., Rohwer, F. L., & Saldarriaga, J. F. (2017). Major transitions in dinoflagellate evolution unveiled by phylotranscriptomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(2), 171–180.
- Kao, C. Y. (1993). Paralytic shellfish poisoning. In *Algal Toxin in Seafood and Drinking Water*; Falconer, I. R., Ed.; Academic Press: London, 75–86.
- Kjørboe, T., & Titelman, J. (1998). Feeding, prey selection and prey encounter mechanisms in the heterotrophic dinoflagellate *Noctiluca scintillans*. *Journal of Plankton Research*, 20(8), 1615–1636.
- Knaust, R., Urbig, T., Li, L., Taylor, W., & Hastings, J. W. (1998). The circadian rhythm of bioluminescence in *Pyrocystis* is not due to differences in the amount of luciferase: a comparative study of three bioluminescent marine dinoflagellates. *Journal of Phycology*, 34(1), 167–172.
- Kudela, R., & Cochlan, W. (2000). Nitrogen and carbon uptake kinetics and the influence of irradiance for a red tide bloom off southern California. *Aquatic Microbial Ecology*, 21, 31–47.
- Li, Y., Swift, E., & Buskey, E. J. (1996). Photoinhibition of mechanically stimutable bioluminescence in the heterotrophic dinoflagellate *Protoperdinium depressum* (Pyrrophyta). *Journal of Phycology*, 32(6), 974–982.
- Li, L., & Hastings, J. W. (1998). The structure and organization of the luciferase gene in the photosynthetic dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*. *Plant Molecular Biology*, 36, 275–284.

- Lindström, J., Grebner, W., Rigby, K., & Selander, E. (2017). Effects of predator lipids on dinoflagellate defence mechanisms—Increased bioluminescence capacity. *Scientific Reports*, 7(1), 13104.
- Liu, L., & Hastings, J. W. (2007). Two different domains of the luciferase gene in the heterotrophic dinoflagellate *Noctiluca scintillans* occur as two separate genes in photosynthetic species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(3), 696–701.
- Marcinko, C. L. J., Painter, S. C., Martin, A. P., & Allen, J. T. (2013). A review of the measurement and modelling of dinoflagellate bioluminescence. *Progress in Oceanography*, 109, 117–129.
- Marek, P., Papaj, D., Yeager, J., Molina, S., & Moore, W. (2011). Bioluminescent aposematism in millipedes. *Current Biology*, 21(18), R680–R681.
- McElroy, W. D., & Seliger, H. H. (1962). Origin and evolution of bioluminescence. In *Horizons of biochemistry*; Kasha, M., & Pullman, B., Ed.; Academic Press: New York, 91–101.
- Mesinger, A. F., & Case, J. F. (1992). Dinoflagellate luminescence increases susceptibility of zooplankton to teleost predation. *Marine Biology*, 112(2), 207–210.
- Mittag, M., Li, L., & Hastings, J. W. (1998). The mRNA Level of the Circadian Regulated *Gonyaulax* Luciferase Remains Constant over the Cycle. *Chronobiology International*, 15(1), 93–98.
- Morquecho, L., Alonso-Rodríguez, R., & Martínez-Tecuapacho, G. A. (2014). Cyst morphology, germination characteristics, and potential toxicity of *Pyrodinium bahamense* in the Gulf of California. *Botanica Marina*, 57(4), 303–314.
- Morquecho, L. (2019). *Pyrodinium bahamense* One the Most Significant Harmful Dinoflagellate in Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 6, 1.
- Nakamura, H., Kishi, Y., Shimomura, O., Morse, D., & Hastings, J. W. (1989). Structure of Dinoflagellate Luciferin and Its Enzymatic and Nonenzymatic Air-Oxidation Products. *Journal of American Chemical Society*, 111, 7607–7611.
- Nicolas, M. T., Sweeney, B. M., & Hastings, J. W. (1987). The ultrastructural localization of luciferase in three bioluminescent dinoflagellates, two species of *Pyrocystis*, and *Noctiluca*, using anti-luciferase and immunogold labelling. *Journal of Cell Science*, 87(1), 189–196.
- Oakley, B. R., & Dodge, J. D. (1974). Kinetochores associated with the nuclear envelope in the mitosis of a dinoflagellate. *Journal of Cell Biology*, 63, 322–325.
- Okaichi, T., & Nishio, S. (1976). Identification of ammonia as the toxic principle of red tide of *Noctiluca miliaris*. *Bulletin of Plankton Society in Japan*, 23(2), 75–80.

- Paz, B., Riobó, P., Luisa Fernández, M., Fraga, S., & Franco, J. M. (2004). Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. *Toxicon*, 44(3), 251–258.
- Phlips, J., Badylak, S., Bledsoe, E., & Cichra, M. (2006). Factors affecting the distribution of *Pyrodinium bahamense* var. *bahamense* in coastal waters of Florida. *Marine Ecology Progress Series*, 322, 99–115.
- Poupin, J., Cussatlegrass, A. S., & Geistdoerfer, P. (1999). *Plancton Marin Bioluminescen*; Rapport Scientifique du LEON: Brest, France, 83.
- Prevett, A., Lindström, J., Xu, J., Karlson, B., & Selander, E. (2019). Grazer-induced bioluminescence gives dinoflagellates a competitive edge. *Current Biology*, 29(12), 564–565.
- Raymond, J. A., & DeVries, A. L. (1976). Bioluminescence in McMurdo Sound, Antarctica. *Limnology and Oceanography*, 21(4), 599–602.
- Rohr, J., Latz, M. I., Fallon, S., Nauen, J. C., & Hendricks, E. (1998). Experimental Approaches Towards Interpreting Dolphin-Stimulated Bioluminescence. *Journal of Experimental Biology*, 201(9), 1447–1460.
- Selander, E., Kubanek, J., Hamberg, M., Andersson, M. X., Cervin, G., & Pavia, H. (2015). Predator lipids induce paralytic shellfish toxins in bloom-forming algae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(20), 6395–6400.
- Seo, K. S., & Fritz, L. (2000). Cell ultrastructural changes correlate with circadian rhythms in *Pyrocystis lunula* (Pyrrophyta). *Journal of Phycology*, 36(2), 351–358.
- Seo, K. S., & Fritz, L. (2001). Evidence for sexual reproduction in the marine dinoflagellates, *Pyrocystis noctiluca* and *Pyrocystis lunula* (Dinophyta). *Journal of Phycology*, 37(4), 530–535.
- Schantz, E. (1971). The dinoflagellate poisons. In *Microbial Toxins*; Kadis, S., Ciegler, A., & Ajl S. J., Ed.; Academic Press: New York, 7, 3–26.
- Schmitter, R. E., Njus, D., Sulzman, F. M., Gooch, V. D., & Hastings, J. W. (1976). Dinoflagellate bioluminescence: A comparative study of in vitro components. *Journal of Cellular Physiology*, 87(1), 123–134.
- Schultz, L. W., Liu, L., Cegielski, M., & Hastings, J. W. (2005). Crystal structure of a pH-regulated luciferase catalyzing the bioluminescent oxidation of an open tetrapyrrole. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102(5), 1378–1383.
- Smith, S. M. E., Morgan, D., Musset, B., Cherny, V. V., Place, A. R., Hastings, J. W., & DeCoursey, T. E. (2011). Voltage-gated proton channel in a dinoflagellate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(44), 18162–18167.
- Stokes, M. D., Deane G. B., Latz M. I., Rohr J. (2004). Bioluminescence imaging of wave-induced turbulence. *Journal of Geophysical Research*, 109, C01004.

- Sulkin, S., Lehto, J., Strom, S., & Hutchinson, D. (1998). Nutritional role of protists in the diet of first stage larvae of the Dungeness crab *Cancer magister*. *Marine Ecology Progress Series*, 169, 237–242.
- Sullivan, J. M., & Swift, E. (1994). Photoinhibition of mechanically stimutable bioluminescence in the autotrophic dinoflagellate *Ceratium fusus* (Pyrophyta). *Journal of Phycology*, 30, 627–633.
- Sweeney, B. M., & Hastings, J. W. (1957). Characteristics of the diurnal rhythm of luminescence in *Gonyaulax polyedra*. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 49(1), 115–128.
- Sweeney, B. M., Haxo, F. T., & Hastings, J. W. (1959). Action Spectra for Two Effects of Light on Luminescence in *Gonyaulax polyedra*. *Journal of General Physiology*, 43(2), 285–299.
- Sweeney, B. M. (1976). *Pedinomonas noctilucae* (Prasinophyceae), the flagellate symbiotic in *Noctiluca* (Dinophyceae) in Southeast Asia. *Journal of Phycology*, 12, 460–464.
- Swift, E., & Taylor, W. R. (1967). Bioluminescence and chloroplast movement in the dinoflagellate *Pyrocystis lunula*. *Journal of Phycology*, 3(2), 77–81.
- Swift, E., Lessard, E. J., & Biggley, W. H. (1985). Organisms associated with stimulated epipelagic bioluminescence in the Sargasso Sea and the Gulf Stream. *Journal of Plankton Research*, 7(6), 831–848.
- Tillmann, U., Bantle, A., Krock, B., Elbrächter, M., & Gottschling, M. (2021). Recommendations for epitypification of dinophytes exemplified by *Lingulodinium polyedra* and molecular phylogenetics of the Gonyaulacales based on curated rRNA sequence data. *Harmful Algae*, 104, 101956.
- Timmins, G. S., Jackson, S. K., & Swartz, H. M. (2001). The Evolution of Bioluminescent Oxygen Consumption as an Ancient Oxygen Detoxification Mechanism. *Journal of Molecular Evolution*, 52(4), 321–332.
- Topalov, G., & Kishi, Y. (2001). Chlorophyll Catabolism Leading to the Skeleton of Dinoflagellate and Krill Luciferins: Hypothesis and Model Studies. *Angewandte Chemie*, 113(20), 4010–4012.
- Underwood, T. J., Tallamy, D. W., & Pesek, J. D. (1997). Bioluminescence in firefly larvae: A test of the aposematic display hypothesis (Coleoptera: Lampyridae). *Journal of Insect Behavior*, 10(3), 365–370.
- Usup, G., Ahmad, A., Matsuoka, K., Lim, P. T., & Leaw, C. P. (2012). Biology, ecology and bloom dynamics of the toxic marine dinoflagellate *Pyrodinium bahamense*. *Harmful Algae*, 14, 301–312.

- Valiadi, M., Iglesias-Rodriguez, D., & Amorim, A. (2012). Distribution and genetic diversity of the luciferase gene within marine dinoflagellates. *Journal of Phycology*, 48, 826–836.
- Valiadi, M., & Iglesias-Rodriguez, D. (2013). Understanding Bioluminescence in Dinoflagellates—How Far Have We Come? *Microorganisms*, 1(1), 3–25.
- von Dassow, P., & Latz, M. I. (2002). The role of Ca²⁺ in stimulated bioluminescence of the dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. *Journal of Experimental Biology*, 205, 2971–2986.
- von Stosch, H. A. (1973). Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two freshwater dinoflagellates, *Gymnodinium pseudopalustre* Schiller and *Woloszynskia apiculata* sp. nov. *British Phycological Journal*, 8(2), 105–134.
- Warrant, E. J., & Locket, N. A. (2004). Vision in the deep sea. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 79, 671–712.
- Widder, E. A., & Case, J. F. (1981). Two flash forms in the bioluminescent dinoflagellate, *Pyrocystis fusiformis*. *Journal of Comparative Physiology*, 143(1), 43–52.
- Widder, E. A., & Case, J. F. (1982). Distribution of subcellular bioluminescent sources in a dinoflagellate, *Pyrocystis fusiformis*. *The Biological Bulletin*, 162(3), 423–448.
- Widder, E. A. (2010). Bioluminescence in the Ocean: Origins of Biological, Chemical, and Ecological Diversity. *Science*, 328(7), 704–708.
- Yamaguchi, A., & Horiguchi, T. (2008). Culture of the heterotrophic dinoflagellate *Protoperidinium crassipes* (Dinophyceae) with noncellular food items. *Journal of Phycology*, 44(4), 1090–1092.
- Yarimizu, K., Cruz-López, R., Auerbach, H., Heimann, L., Schünemann, V., & Carrano, C. J. (2017). Iron uptake and storage in the HAB dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. *BioMetals*, 30(6), 945–953.